

09/674880

PCT/JP99/02283

E K J J

日 本 国 特 許 庁

02.06.99

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

1998年 4月28日

22 JUN 1999

出 願 番 号

Application Number:

平成10年特許願第119731号

出 願 人

Applicant(s):

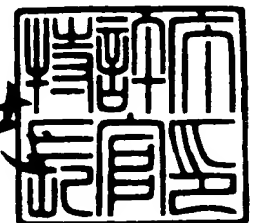
小野薬品工業株式会社

PRIORITY  
DOCUMENTSUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1999年 5月28日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

山 建 志



出証番号 出証特平11-3034413

【書類名】 特許願

【整理番号】 GEJP-52

【提出日】 平成10年 4月28日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12N 15/00  
C07K 7/00

【発明の名称】 新規なポリペプチド、その製造方法、そのポリペプチドをコードする cDNA、その cDNA からなるベクター、そのベクターで形質転換された宿主細胞、そのポリペプチドの抗体、そのポリペプチドまたは抗体を含有する薬学的組成物、およびそのポリペプチドを用いたスクリーニング方法

【請求項の数】 13

【発明者】

【住所又は居所】 京都市左京区岩倉大鷲町 19-4

【氏名】 本庶 佑

【発明者】

【住所又は居所】 京都市北区小山東大野町 93

【氏名】 田代 啓

【発明者】

【住所又は居所】 米国カリフォルニア州サンディエゴ 5324 番 パルミラ  
ドクター 7665

【氏名】 中邨 智之

【特許出願人】

【識別番号】 000185983

【郵便番号】 541

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町 2 丁目 1 番 5 号

【氏名又は名称】 小野薬品工業株式会社

【代表者】 上野 利雄

【手数料の表示】

【納付方法】 予納

【予納台帳番号】 029595

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 2

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 新規なポリペプチド、その製造方法、そのポリペプチドをコードする cDNA、その cDNA からなるベクター、そのベクターで形質転換された宿主細胞、そのポリペプチドの抗体、そのポリペプチドまたは抗体を含有する薬学的組成物、およびそのポリペプチドを用いたスクリーニング方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 実質的に純粋な形である配列番号 1、4、6、9、11 または 14 で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、そのホモログ、そのフラグメントまたはそのフラグメントのホモログ。

【請求項 2】 配列番号 1、4、6、9、11 または 14 で示されるアミノ酸配列からなる請求項 1 記載のポリペプチド。

【請求項 3】 請求項 1 に記載されたポリペプチドをコードする cDNA。

【請求項 4】 配列番号 2、5、7、10、12 または 15 で示される塩基配列を有する請求項 3 記載の cDNA、またはその配列に選択的にハイブリダイズするフラグメント。

【請求項 5】 配列番号 3、8 または 13 で示される塩基配列を有する請求項 3 記載の cDNA、またはその配列に選択的にハイブリダイズするフラグメント。

【請求項 6】 請求項 3 から 5 のいずれかの項に記載の cDNA からなる複製または発現ベクター。

【請求項 7】 請求項 6 記載の複製または発現ベクターで形質転換された宿主細胞。

【請求項 8】 請求項 1 または 2 に記載されたポリペプチドを発現させるための条件下で請求項 7 記載の宿主細胞を培養することからなる該ポリペプチドの製造方法。

【請求項 9】 請求項 1 または 2 に記載されたポリペプチドのモノクローナルまたはポリクローナル抗体。

【請求項 10】 請求項 1 または 2 に記載されたポリペプチドまたは請求項 9 記載の抗体および薬学的に許容される賦形剤および／または担体を含有するこ

とを特徴とする薬学的組成物。

【請求項 11】 請求項 1 または 2 に記載されたポリペプチドおよび薬学的に許容される賦形剤および／または担体を含有することを特徴とする異常な平滑筋の増殖に係る疾患の治療に有効な薬学的組成物。

【請求項 12】 請求項 1 または 2 に記載されたポリペプチドおよび薬学的に許容される賦形剤および／または担体を含有することを特徴とする動脈硬化または経皮的冠動脈形成術（PTCA）後の再狭窄をもたらす血管内膜肥厚、筋腫の治療に有効な請求項 11 記載の薬学的組成物。

【請求項 13】 請求項 1 または 2 に記載されたポリペプチドを用いて、該ポリペプチドに対するアンタゴニストまたはアゴニストとしての活性を有する化合物をスクリーニングする方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明は、新規なポリペプチド、その製造方法、そのポリペプチドをコードする cDNA、その cDNA からなるベクター、そのベクターで形質転換された宿主細胞、そのポリペプチドの抗体、そのポリペプチドまたは抗体を含有する薬学的組成物およびそのポリペプチドを用いたスクリーニング方法に関する。

【0002】

【発明の解決しようとする課題】

本発明者らは、平滑筋細胞の異常増殖に係る疾患の治療、診断、あるいは研究上有益な新規な因子（ポリペプチド）、特に分泌シグナルを有する分泌蛋白質および膜蛋白質に着目してそれを見出すべく、鋭意検討を行った。

【0003】

【発明の背景】

現代医学の研究では、心臓血管系の疾患は死を招く原因であるので、心臓血管領域は大きな関心を喚起する分野である。心臓血管領域の研究は、動脈内膜再形成及び動脈リモデリングに関する重要な事実を明らかにしており、双方とも動脈硬化におけるプラーク形成並びに血管狭窄に寄与すると考えられている。例えば

、動脈硬化の動物モデルでの血管損傷を与える高コレステロール血症における細胞レベルでの過程には3つの事象がある。動脈壁の病変を形成する3要素は、a) 平滑筋細胞、マクロファージ及びリンパ球の増殖、b) 結合組織の形成、c) 新たに形成された結合組織マトリックスへの脂肪及びコレステロールの蓄積、である。この3要素の関与に関しての正確な順位付けには議論を要するが、平滑筋細胞の異常な分化、脱分化、増殖が構造的に血管障害に寄与することは明らかである。更に、平滑筋細胞の異常な増殖が関与するもう一つの重要な組織学的過程は、経皮的冠動脈形成術後(Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty)の再狭窄である。

## 【0004】

血管形成における平滑筋が構成する部分に係る分子を単離し、上記のような異常な平滑筋細胞の増殖を制御するために使用することを目的として、誠意努力した。

従来、ある特定のポリペプチドまたはそれをコードするcDNAを得ようとする場合、組織や細胞培養液中に目的とする生物活性を確認し、次いでポリペプチドの単離精製を経て、遺伝子をクローニングするという方法、あるいはその生物活性を指標として遺伝子を発現クローニングする方法が一般的に用いられてきた。しかし、生体内生理活性ポリペプチドは、多様な生物活性を有している場合が多いので、あるひとつの活性を指標にして遺伝子をクローニングした結果、それが既知のポリペプチドと同一であることが後になって判明するという事例が増えている。また、微量しか産生されなかったり、特別な生理的条件下でのみ発現する因子も多く、そのことが単離、精製および生物活性の確認を困難なものとしている。

## 【0005】

## 【従来の技術】

近年、cDNAの作製技術やシーケンス技術は急速に発展し、大量のcDNAのシーケンスを迅速に行うことができるようになった。そこでこれらの技術を利用して、様々な細胞や組織からcDNAライブラリーを作製し、ランダムにcDNAをクローニングして塩基配列を決定し、新規なポリペプチドをコードす

る遺伝子を単離する方法が発展している。この方法は、生化学的、遺伝学的な解析を一切必要とせずに遺伝子をクローニングし、その塩基配列の情報を得ることができるという特徴を有しているが、目的とする遺伝子の発見は偶発的要素が大きい。

## 【0006】

## 【課題を解決するための手段】

本発明者らは、これまで造血系や免疫系で働く増殖分化因子の遺伝子のクローニングを研究してきた。そして、増殖分化因子（例えば、各種サイトカイン等）のような分泌蛋白質やそのレセプターのような膜蛋白質（以下、これらをまとめて分泌蛋白質等と呼ぶ。）の大部分がそのN末端にシグナルペプチドと呼ばれる配列を有していることに着目して、シグナルペプチドをコードする遺伝子を効率的かつ選択的にクローニングする方法を鋭意検討した。その結果、動物細胞を用いて、シグナルペプチドの有無を簡単に検索できる方法（シグナルシーケンストラップ（SST）法）を見出した（特願平6-13951号参照）。さらに同じ概念のもとに、酵母を用いてさらに大量かつ簡便にシグナルペプチドをコードする遺伝子を単離する方法（酵母SST法）も開発された（米国特許 No. 5,536,637参照）。

本方法を用いて、マウス胎児心臓組織およびヒト腎臓組織が産生している新規な分泌蛋白質、およびそれをコードするcDNAを同定することに成功し、全長cDNAをその情報を基にマウス胎児心臓組織およびヒト脳組織より見出し、更に該ポリペプチドが血管平滑筋細胞の増殖を抑制する効果を有することを確認し、本発明を完成した。

## 【0007】

本発明が提供するcDNA配列は、クローンマウスA55として同定され、マウス胎児心臓組織から作製したcDNAライブラリーより、上記酵母SST法を使用して得た情報をもとに単離された。クローンマウスA55は分泌蛋白質（ここではマウスA55蛋白として表される）をコードする完全なcDNA配列を含む全長鎖cDNAである。

【0008】

本発明が提供する cDNA 配列は、クローンヒト A55 として同定され、上記酵母 SST 法を使用してヒト腎臓組織より得た情報をもとに、ヒト脳組織から作製した cDNA ライブラリーより見出された。クローンヒト A55 は分泌蛋白質（ここではヒト A55 蛋白として表される）をコードする完全な cDNA 配列を含む全長鎖 cDNA である。

【0009】

核酸配列データベースに登録されている既知の核酸配列に対して BLASTN および FASTA により、また アミノ酸配列データベースに登録されている既知のポリペプチドのアミノ酸配列に対して BLASTX、BLASTP および FASTA により検索した結果、本発明のポリペプチドマウス並びにヒト A55 およびそれらをコードする核酸配列と一致する配列はなかった。このことから、本発明のポリペプチドは、新規の分泌蛋白質であることが判明した。また、我々は、該ポリペプチドが血管平滑筋細胞の増殖を抑制する効果を有することを確認した。そのため、該ポリペプチドを用いて異常な平滑筋の増殖に係る疾患、例えば動脈硬化や経皮的冠動脈形成術（PTCA）後の再狭窄をもたらす血管内膜肥厚、筋腫等の治療に有用であると考えられる。

【0010】

【発明の構成】

本発明は、

- (1) 配列番号 1、4、6、9、11 または 14 で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、
  - (2) 前記 (1) に記載したポリペプチドをコードする cDNA、
  - (3) 配列番号 2、5、7、10、12 または 15 で示される塩基配列を有する cDNA、
  - (4) 配列番号 3、8 または 13 で示される塩基配列を有する cDNA、
- に関する。

【0011】

本発明は、実質的に純粋な形である配列番号 1、4、6、9、11 または 14



で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、そのホモログ、その配列のフラグメントおよびそのホモログに関する。

本発明はさらにそれらのポリペプチドをコードする cDNA に関する。より具体的には、配列番号 2、5、7、10、12 または 15 で示される塩基配列を有する cDNA、および配列番号 2、5、7、10、12 または 15 で示される塩基配列に選択的にハイブリダイズするフラグメントを有する cDNA に関する。ハイブリダイズする cDNA には、上記配列の相補配列も含まれる。

#### 【0012】

実質的に純粋な形である配列番号 1、4、6、9、11 または 14 で示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドとは、一般に、生産時のポリペプチドの 90% 以上、例えば、95、98 または 99% が配列番号 1、4、6、9、11 または 14 で示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドであることを意味する。

#### 【0013】

配列番号 1、4、6、9、11 または 14 で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドのホモログとは、一般に少なくとも 20 個、好ましくは少なくとも 30 個、例えば 40、60 または 100 個の連続したアミノ酸領域で、少なくとも 70%、好ましくは少なくとも 80 または 90%、より好ましくは 95% 以上相同性であるものであり、そのようなホモログは、以後本発明のポリペプチドとして記載される。

#### 【0014】

さらに、配列番号 1、4、6、9、11 または 14 で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドのフラグメント、またはそれらのホモログのフラグメントとは、少なくとも 10 アミノ酸、好ましくは少なくとも 15 アミノ酸、例えば 20、25、30、40、50 または 60 アミノ酸部分を意味する。

#### 【0015】

配列番号 2、5、7、10、12 または 15 で示される塩基配列を有する cDNA に選択的にハイブリダイズする cDNA とは、一般に、少なくとも 20 個、好ましくは少なくとも 30 個、例えば 40、60 または 100 個の連続した塩基配列領域で、少なくとも 70%、好ましくは少なくとも 80 または 90%、より

好ましくは95%以上相同性であるものであり、そのようなcDNAは、以後本発明のcDNAとして記載される。

【0016】

配列番号2、5、7、10、12または15で示される塩基配列を有するcDNAのフラグメントとは、少なくとも10塩基、好ましくは少なくとも15塩基、例えば20、25、30または40塩基部分を意味し、そのようなフラグメントも本発明のcDNAに含まれる。

【0017】

さらに、本発明には、本発明のcDNAからなる複製または発現ベクターが含まれる。ベクターとしては、例えば、ori領域と、必要により上記cDNAの発現のためのプロモーター、プロモーターの制御因子などからなるプラスミド、ウィルスまたはファージベクターが挙げられる。ベクターはひとつまたはそれ以上の選択的マーカー遺伝子、例えばアンピシリン耐性遺伝子を含んでいてもよい。ベクターは、イン・ビトロ (in vitro) において、例えばcDNAに対応するRNAの製造、宿主細胞の形質転換に用いることができる。

【0018】

さらに、本発明には、配列番号2、3、5、7、8、10、12、13または15で示される塩基配列、またはそれらのオープンリーディングフレームを有するcDNAを含む本発明のcDNAを複製または発現させるためのベクターで形質転換された宿主細胞も含まれる。細胞としては、例えば細菌、酵母、昆虫細胞または哺乳動物細胞が挙げられる。

【0019】

さらに、本発明には、本発明のポリペプチドを発現させるための条件下で、本発明の宿主細胞を培養することからなる本発明のポリペプチドの製造方法も含まれる。培養は、本発明のポリペプチドが発現し、宿主細胞より製造される条件下で行われることが好ましい。

【0020】

本発明のcDNAは、上記のようなベクターのアンチセンス領域に挿入することでアンチセンスRNAを製造することもできる。このようなアンチセンスRN

Aは、細胞中の本発明のポリペプチドのレベルを制御することに用いることもできる。

【0021】

本発明は、本発明におけるポリペプチドのモノクローナルまたはポリクローナル抗体も含む。さらに本発明におけるポリペプチドのモノクローナルまたはポリクローナル抗体の製造方法も含む。モノクローナル抗体は、本発明のペプチドまたは、その断片を抗原として用い、通常のハイブリドーマの技術により製造することができる。ポリクローナル抗体は、宿主動物（例えば、ラットやウサギ等）に本発明のポリペプチドを接種し、免疫血清を回収する、通常の方法により製造することができる。

【0022】

本発明には、本発明のポリペプチド、その抗体と薬学的に許容される賦形剤および／または担体を含有する薬学的組成物も含まれる。

【0023】

(1) の本発明のポリペプチドとしては、配列番号 1、4、6、9、11 または 14 で示されたアミノ酸配列を有するもの以外に、その一部が欠損したもの（例えば、配列番号 1 中、生物活性の発現に必須な部分だけからなるポリペプチド等）、その一部が他のアミノ酸と置換したもの（例えば、物性の類似したアミノ酸に置換したもの）、および上記本発明のポリペプチドに他のアミノ酸が付加または挿入されたものも含まれる。

【0024】

よく知られているように、ひとつのアミノ酸をコードするコドンは 1～6 種類（例えば、Met は 1 種類、Leu は 6 種類）知られている。従って、ポリペプチドのアミノ酸配列を変えることなく cDNA の塩基配列を変えることができる。

【0025】

(2) で特定される本発明の cDNA には、(1) の配列番号 1、4、6、9、11 または 14 で示されるポリペプチドをコードするすべての塩基配列群が含まれる。塩基配列を変えることによって、ポリペプチドの生産性が向上すること

がある。

(3) で特定される cDNA は、(2) で示される cDNA の一態様であり、天然型配列を表わす。

【0026】

(4) に示される cDNA は、(3) で特定される cDNA に天然の非翻訳部分を加えた配列を示す。

【0027】

配列番号 3、8 または 13 で示される塩基配列を有する cDNA の作製は、以下の方法に従って行われる。

【0028】

はじめに酵母 SST 法 (米国特許 No. 5,536,637 に記載) の概要について説明する。

*Saccharomyces cerevisiae* などの酵母がショ糖またはラフィノースをエネルギー源や炭素源として利用するためにはインベルターゼを培地中に分泌しなければならない。(インベルターゼはラフィノースをショ糖とメリビオースに、ショ糖をフルクトースとグルコースに分解する酵素である。) また数多くの既知の哺乳類のシグナルペプチドは酵母のインベルターゼを分泌させうることが知られている。これらの知見から、酵母のインベルターゼの分泌を可能にする新規のシグナルペプチドを哺乳類の cDNA ライブラリーからラフィノース培地上での酵母の生育を指標にスクリーニングする方法として本方法は開発された。翻訳開始点 ATG を削除した非分泌型のインベルターゼ遺伝子 SUC2 (GENBANK accession No. V01311) を酵母の発現ベクター (発現用プロモーター (ADH プロモーター) およびターミネーター (ADH ターミネーター) は AAH5 プラスミド (Gammerer, Methods in Enzymol. 101, 192-201, 1983) 由来で、酵母複製起点は 2  $\mu$  ori、酵母選択マーカーには TRP1、大腸菌複製起点は ColE1 ori、大腸菌薬剤耐性マーカーにはアンピシリンが使用されている) に組み込んで酵母 SST 用ベクター pSUC2 を作製した。その SUC2 遺伝子上流に哺乳類の cDNA を組み込んで、酵母 SST cDNA ライブラリーを調製した。このライブラリーを分泌型インベルターゼを欠損している酵母に形質転換した。組み込まれた哺乳類 cDNA がシグナルペプチドを

コードしている場合、酵母で発現されたインベルターゼに対しても分泌作用をもつと考えられ、その結果ラフィノース培地上での生育が可能となる。よって出現したコロニーから酵母を培養してプラスミドを調製し、インサート cDNA の塩基配列を決定することによって、新規シグナルペプチドの検索を迅速かつ容易にした。

## 【0029】

酵母 S S T cDNA ライブラリーの作製は

- (1) 対象となる細胞より mRNA を単離し、特定の制限酵素（酵素 I）サイトを連結したランダムプライマーを用いて二本鎖 cDNA を合成し、
- (2) 酵素 I とは異なる特定の制限酵素（酵素 II）サイトを含むアダプターを連結して、酵素 I で消化した後、適当なサイズで分画し、
- (3) 酵母発現ベクター内のシグナルペプチドを削除したインベルターゼ遺伝子の上流に得られた cDNA 断片を連結し、形質転換する工程よりなる。

## 【0030】

各工程を詳しく説明すると、工程（1）では、対象となる哺乳類の臓器や細胞株などより、必要により適当な刺激剤で刺激した後、公知の方法（以下、公知の方法は特に記載がなければ Molecular Cloning (Sambrook, J., Fritsch, E. F. および Maniatis, T. 著、Cold Spring Harbor Laboratory Press より 1989 年に発刊）または Current Protocol in Molecular Biology (F.M. Ausubel ら編、John Wiley & Sons, Inc より発刊）に記載の方法に従って行われる。）に従って mRNA の単離が行われる。

対象となる組織としては、マウス胎児心臓が挙げられる。ランダムプライマーを用いる二本鎖 cDNA の合成は公知の方法により行われる。

## 【0031】

アダプターに連結される制限酵素（酵素 I）サイトと次の工程（2）で用いられる制限酵素（酵素 II）サイトは、互いに異なるものであれば何を用いてもよい。好ましくは、酵素 I として XhoI、酵素 II としては EcoRI が用いられる。

## 【0032】

工程（2）では T4 DNA ポリメラーゼで末端を平滑化し、酵素 II アダプタ

ーを連結した後、酵素Iで消化し、アガロース電気泳動（AGE）により300～800bpのcDNAを分画する。酵素IIは、前記したように酵素Iと異なるものなら何でもよい。

【0033】

工程（3）は、酵母発現用プラスミドベクターに連結されたシグナルペプチドを削除したインベルターゼの遺伝子上流に（2）で得られたcDNA断片を組み込んで大腸菌に形質転換する工程である。ここで酵母発現用プラスミドベクターとしては種々のものが知られているが、例えば、大腸菌内でも機能するYEp24などが用いられるが、好適には前述したプラスミドpSUC2が用いられる。

【0034】

形質転換のための宿主大腸菌株はすでに多くのものが知られており、好ましくはDH10Bのコンピテントセルである。また形質転換方法は公知の方法のいずれを用いてもよいが、好ましくはエレクトロポレーション法により行われる。形質転換体は公知の方法により培養され、酵母SST用のcDNAライブラリーが得られる。

【0035】

このcDNAライブラリーは、すべてのクローンが該断片を含んでいる訳ではないし、またすべてが未知の（新規の）シグナルペプチドをコードする遺伝子断片とは限らない。そこで、次に該ライブラリーから未知のシグナルペプチドをコードする遺伝子断片をスクリーニングする必要がある。

【0036】

すなわち、cDNAライブラリーをインベルターゼ遺伝子をもたない酵母*Saccharomyces cerevisiae*（例えばYT455株など）またはインベルターゼ遺伝子を人為的に欠損させた株（公知の方法に従い作製可能）を用いることができる。酵母の形質転換は公知の方法、例えば酢酸リチウム法によって行われる。形質転換体を選択培地で生育後、ラフィノースを炭素源とする培地に移し、生育可能なコロニーを選択し、プラスミドを回収する。ラフィノースを炭素源として酵母が生育したということは、ライブラリー中に何らかの分泌蛋白質のシグナルペプチドが組み込まれていたことを示している。

## 【0037】

次に、単離した陽性クローンについて、塩基配列を決定し、未知の蛋白質をコードすることが明らかになった cDNA については、それをプローブとして全長クローンを単離し、全長の塩基配列を決定することができる。これらの操作は、当業者にとってすべて公知の方法で行われる。

## 【0038】

配列番号 2、5、7、10、12 または 15 で示される塩基配列が、一部、好ましくは全てが確定されると哺乳類に存在する本発明の蛋白質をコードする cDNA もしくは本発明蛋白質のホモログおよびサブセットをコードする cDNA を得ることができる。適当な塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを合成し、それを用いて、哺乳類由来の cDNA ライブラリーあるいは mRNA から PCR 法により、あるいは適当な塩基配列の断片をプローブとしてハイブリダイズさせることにより、他の哺乳類 cDNA ライブラリーあるいは該ゲノムライブラリーから、他の哺乳類型の当該蛋白質をコードする cDNA を得ることができる。

## 【0039】

このようにして得られた cDNA が、SST で得られた cDNA 断片の塩基配列（またはその相同配列）を含んでいるならばシグナルペプチドをコードしていることになるので、該 cDNA が全長、またはほぼ全長であることは明らかである。（シグナルペプチドは例外なく蛋白質の N 末端に存在することから、cDNA のオープンリーディングフレームの 5' 末端にコードされている。）

さらに公知の方法に従い、該 cDNA をプローブとしてノザン (Northern) 解析によって全長の確認をしてもよい。ハイブリダイズしたバンドから得られる mRNA のサイズと該 cDNA のサイズを比較し、ほぼ同じであれば該 cDNA はほぼ全長であると考えられる。

## 【0040】

本発明は、開示されたタンパクの全長型並びに成熟型の両方を提供する。それらのタンパクの全長型は、配列番号 2、7 または 12 で示される塩基配列の翻訳されるアミノ酸配列で同定される。それらの成熟タンパクは、適当な哺乳類の細胞あるいはその他の宿主細胞で開示された配列番号 3、8 または 13 で示される

全長DNAを発現させることによって得られる。成熟型のタンパクの配列は、全長型のアミノ酸配列より予測可能である。

【0041】

配列番号2、5、7、10、12または15で示される塩基配列が一旦確定されると、その後は、化学合成によって、あるいは該塩基配列の断片を化学合成し、これをプローブとしてハイブリダイズさせることにより、本発明のcDNAを得ることができる。さらに、本cDNAを含有するベクターcDNAを適当な宿主に導入し、これを増殖させることによって、目的とするcDNAを必要量得ることができる。

【0042】

本発明のポリペプチドを取得する方法としては、

- (1) 生体または培養細胞から精製単離する方法、
- (2) ペプチド合成する方法、または
- (3) 遺伝子組み換え技術を用いて生産する方法、

などが挙げられるが、工業的には(3)に記載した方法が好ましい。

【0043】

遺伝子組み換え技術を用いてポリペプチドを生産するための発現系(宿主-ベクター系)としては、例えば、細菌、酵母、昆虫細胞および哺乳動物細胞の発現系が挙げられる。

【0044】

例えば、大腸菌で発現させる場合には、成熟蛋白部分をコードするcDNAの5'末端に開始コドン(ATG)を付加し、得られたcDNAを、適当なプロモーター(例えば、trpプロモーター、lacプロモーター、λPLプロモーター、T7プロモーター等)の下流に接続し、大腸菌内で機能するベクター(例えば、pBR322、pUC18、pUC19等)に挿入して発現ベクターを作製する。

【0045】

次に、この発現ベクターで形質転換した大腸菌(例えば、E. Coli DH1、E. Coli JM109、E. Coli HB101株等)を適当な培地で培養して、その菌



体より目的とするポリペプチドを得ることができる。また、バクテリアのシグナルペプチド（例えば、*pelB* のシグナルペプチド）を利用すれば、ペリプラズム中に目的とするポリペプチドを分泌することもできる。さらに、他のポリペプチドとのフュージョン・プロテイン（*fusion protein*）を生産することもできる。

#### 【0046】

また、哺乳動物細胞で発現させる場合には、例えば、配列番号 3、8 または 13 で示される塩基配列をコードする cDNA を適当なベクター（例えば、レトロウイルスベクター、パピローマウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、SV40 系ベクター等）中の適当なプロモーター（例えば、SV40 プロモーター、LTR プロモーター、メタロチオネインプロモーター等）の下流に挿入して発現ベクターを作製する。次に、得られた発現ベクターで適当な哺乳動物細胞（例えば、サル COS-1 細胞、COS-7 細胞、チャイニーズハムスター CHO 細胞、マウス L 細胞等）を形質転換し、形質転換体を適当な培地で培養することによって、分泌蛋白である本発明の蛋白は、その細胞上清中に目的とするポリペプチドとして発現される。さらに、その他のポリペプチド、例えば抗体の定常領域（*Fc portion*）をコードする cDNA 断片と連結することによって、フュージョン・プロテイン（*fusion protein*）を生産することもできる。以上のようにして得られたポリペプチドは、一般的な生化学的方法によって単離精製することができる。

#### 【0047】

##### 【発明の効果】

本発明のポリペプチドおよびそれをコードする cDNA は、一つあるいはそれ以上の効果あるいは生物活性（以下に列挙するアッセイに関連するものを含む）を示すことが考えられる。本発明の蛋白に関して記述される効果あるいは生物活性は、その蛋白の投与あるいは使用により、あるいは、その蛋白をコードする cDNA の投与あるいは使用（例えば、遺伝子療法や cDNA 導入に適したベクター）により、提供される。また、我々は、該ポリペプチドが血管平滑筋細胞の増殖を抑制する効果を有することを確認した。そのため、該ポリペプチドを用いて

平滑筋の異常な増殖に係る疾患、例えば動脈硬化や経皮的冠動脈形成術（PTCA）後の再狭窄をもたらす血管内膜肥厚、筋腫等の治療に応用可能であると考えられる。

本発明がこれに限定されるものではないが、

【0048】

「サイトカイン活性および細胞増殖／分化活性」

本発明の蛋白は、サイトカイン活性および細胞増殖（誘導あるいは阻害）／分化活性（誘導あるいは阻害）を示す可能性、あるいはある細胞集団に他のサイトカインの産生を誘導あるいは抑制すると考えられる。全ての既知のサイトカインを含む、現在発見されている多くの蛋白性因子は、因子に依存した一つあるいはそれ以上の細胞増殖アッセイ法で、活性を示してきたので、それらのアッセイは、サイトカイン活性の便利な確認法として機能する。本発明の蛋白の活性は、多くの従来の因子依存性の細胞株の細胞増殖アッセイのうちのいずれかによって証明され得る。

「免疫刺激／抑制活性」

本発明の蛋白は、免疫刺激活性および免疫抑制活性も示すと考えられる。また、ある蛋白は、例えば、Tリンパ球およびBリンパ球あるいはどちらか一方の成長および増殖を制御（刺激あるいは抑制）することや、同様にNK細胞や他の集団の細胞傷害性活性に影響を与えることによって、様々な免疫不全および疾患（severe combined immunodeficiency (SCID)を含む）の治療に効果を示すと考えられる。これらの免疫不全は遺伝性である場合もあるし、（例えばHIVのような）ウィルスや、同様に細菌やカビの感染が原因で起こる場合もある。あるいは、自己免疫疾患から由来する可能性もある。より特殊な場合に、HIV、hepatitis viruses、herpes viruses、mycobacteria、leishmania、malaria およびcandidaのような様々なカビ感染を含む、ウィルス、細菌、カビあるいは他の感染による感染症の原因を、本発明の蛋白を用いることによって治療できると考えられる。もちろん、この関連より、本発明の蛋白は、免疫システムが増大していることが一般的に示唆される場所、すなわち癌治療の箇所において効果を示すと考えられる。

【0049】

本発明の該蛋白は、アレルギー反応および喘息や他の呼吸器系疾患のような状況の治療に効果にも効果を示すと考えられる。免疫抑制が望まれるような他の状態（例えば、喘息や関連呼吸器疾患を含む）にも、本発明の蛋白を用いて治療できると考えられる。

本発明の蛋白は、例えば、（敗血病性のショックあるいは全身性炎症反応症候群(SIRS)のような）、炎症性大腸炎、クローン病、あるいは（IL-11により証明された効果のような）TNFやIL-1のようなサイトカインの過剰産生から由来するような感染に関連した慢性あるいは急性の炎症を抑制する可能性もある。

#### 「造血細胞制御活性」

本発明の蛋白は、造血細胞の制御に、またそれに応じて骨髓球様細胞あるいはリンパ球様細胞の欠乏に対する治療にも効果を示すと考えられる。コロニー形成細胞あるいは因子依存性細胞株の援助の下での極く弱い生物活性でさえも、造血細胞の制御に係わることを示唆する。その生物活性とは、次に挙げる例の全てあるいはそのいずれかで例えられるようなものに係わるものである。赤血球前駆細胞のみの（成長および）増殖を支持、あるいは他のサイトカインとの組み合わせ、また、それが示唆する有効性、例えば様々な貧血の治療、あるいは赤血球前駆細胞および赤血球あるいはそのどちらかの産生を刺激する放射線療法／化学療法と組み合わせての使用；顆粒球および単球／マクロファージのような骨髓球の（成長および）増殖を支持（すなわち、古典的なCSF活性）、化学療法に伴う骨髓抑制を防ぐための化学療法との併用；巨核球の（成長および）増殖およびそれに続く血小板の（成長および）増殖の支持、それによって血小板減少症のような様々な血小板障害を防御および治療を可能とする血小板輸血の際あるいは相補的に一般的使用；上記造血細胞の幾つかあるいは全ての細胞へ成熟可能な造血幹細胞の（成長および）増殖の支持、従って、様々な幹細胞障害（限定はされないが、再生不良性貧血および発作性夜間血色素尿症を含む、移植で一般的に治療されるようなもの）に治療的効果を見い出せる、また、正常細胞あるいは遺伝子療法のため遺伝的に操作された細胞をin-vitroあるいはex-vivo（すなわち、骨髓移植に伴う）どちらかで、放射線療法／化学療法後の幹細胞分画の再構築を行うことも同様である。

【0050】

本発明の蛋白は、他の方法の中で、以下の方法により測定することが可能である。

「組織生成／修復活性」

本発明の蛋白は、損傷治癒および組織修復、また、火傷、切開、および潰瘍の治療と同様に、骨、軟骨、腱、靱帯、および神経組織成長あるいは再生のいずれかに使用されることが考えられる。

【0051】

骨を正常に形成しない環境での軟骨および骨あるいはいずれかの成長を誘導するような本発明の蛋白は、ヒトおよび他の動物の骨折および軟骨損傷あるいは欠損の治癒に適用される。該発明の蛋白を使用している製剤は、開放骨折と同様に閉鎖骨折の修復、また人工関節の固定の改良にも、予防的使用のと考えられる。骨形成剤により誘導された新生骨形成は、先天性、外傷性、癌切除術により誘発した頭蓋顔面の欠損の修復に貢献する。また、美容形成外科分野にも有効である。

【0052】

本発明の蛋白は、歯根膜症の治療および他の歯の修復にも使用されることが考えられる。そのような薬品は、骨形成細胞を引き寄せ、その細胞の増殖を刺激し、その前駆細胞の分化を誘導する環境を提供することが考えられる。該発明の蛋白は、骨および軟骨あるいはいずれかの修復を刺激することを通して、あるいは、炎症あるいは炎症過程で介される組織破壊（コラゲナーゼ活性や破骨細胞の活性）の過程を阻止することにより、骨粗鬆症および骨関節炎の治療に有効のと考えられる。

【0053】

本発明の蛋白に起因すると考えられる組織再生活性の別のカテゴリーは腱／靱帯形成である。本発明の蛋白は、腱／靱帯様組織あるいは他の組織が正常に形成されない環境でそのような組織形成を誘導するものであるが、ヒトおよび他の動物における腱／靱帯の裂傷、奇形、および他の腱／靱帯の障害の治療に適用できる。腱／靱帯様組織を誘導する蛋白を使用している製剤は、骨あるいは他の組織への腱／靱帯の固定の改良、および腱／靱帯組織の欠損の修復での使用はもちろ

ん、腱あるいは靱帯の損傷の防御に対して予防的使用も考えられる。本発明の構成物により誘導された新生腱／靱帯様組織形成は、先天性、外傷、あるいは他の起源の腱あるいは靱帯欠損の修復に貢献する。また、腱あるいは靱帯の貼付あるいは修復という美容形成外科でも有効である。本発明の構成物は、腱／靱帯形成細胞を引き寄せ、その細胞の増殖を刺激し、その前駆細胞の分化を誘導する環境を提供すると考えられる。あるいは、組織修復を果たすため *in vivo* への返還に備えて *ex vivo* で腱／靱帯細胞あるいはその前駆細胞を誘導する。該発明の構成物は、腱炎、Carpal tunnel syndrome、および他の腱あるいは靱帯欠損の治療にも有効である。該構成物には、適当なマトリックスおよびキャリアーと同様に当業者に良く知られている Sequestering 剤も含まれる。

## 【0054】

本発明の蛋白は、神経細胞の増殖、および、神経および脳組織の再生、即ち、神経細胞あるいは神経組織に対する変性、死、あるいは外傷を含む機械的および外傷的障害と同様に中枢および末梢神経系疾患および神経病の治療に対しても、効果を示すと考えられる。より特異的には、ある蛋白は、末梢神経障害、末梢神経症、および局所的神経症のような末梢神経系の疾患、およびアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、amyotrophic lateral 硬化症、および Shy-Drager 症候群のような中枢神経系の疾患の治療に有効であると考えられる。更に本発明に応じて治療され得る条件には、脊髄障害、頭部外傷、および脳卒中等の脳血管疾患のような機械的および外傷的障害を含む。化学療法あるいは他の治療から起因する末梢神経症も本発明の蛋白を用いて治療可能である。

## 【0055】

本発明の蛋白は、（例えば脾臓、肝臓、腸、腎臓、皮膚、内皮を含めた）臓器、（平滑、骨格あるいは心臓）筋肉、および（血管内皮を含めた）血管組織のような他の組織を生成する活性、あるいはそのような組織を構成する細胞の増殖を促進または抑制する活性を示す可能性も期待される。望まれる効果の一部は、正常組織を再生させる繊維性 scarring 瘢痕の阻害によっても担われると考えられる。

## 【0056】

本発明の蛋白は、消化管保護あるいは再生、および肺あるいは肝臓の繊維化、様々な組織の再還流損傷、および全身性サイトカイン障害に起因する状態に対する治療にも有効であると考えられる。

「アクチビン／インヒビン活性」

本発明の蛋白は、アクチビン／インヒビンに関連した活性を示すと考えられる。アクチビンは濾胞刺激ホルモン(FSH)の放出を刺激する活性によって特徴づけられるが、インヒビンは、濾胞刺激ホルモン(FSH)の放出を阻害する活性によって特徴づけられる。よって、本発明の蛋白は、単独あるいはインヒビン $\alpha$ ファミリーのメンバーとのヘテロダイマーで、哺乳類動物の雌の受精率を減少させ、雄の精子形成を減少させるインヒビンの活性に基づく避妊調節剤として有効であると考えられる。充分量の他のインヒビンの投与によって、哺乳動物の不妊を誘導可能である。一方、本発明の蛋白は、インヒビン $\beta$ グループの他の蛋白サブユニットとのホモダイマーあるいはヘテロダイマーで、前脳下垂体の細胞からFSH放出を刺激するアクチビン分子の活性に基づいた治療的な不妊誘導として有効であると考えられる。米国特許4,798,885を参照。本発明の蛋白は、牛、羊、および豚のような家畜の生涯出産能力可能な期間を延ばすために、性的に未熟なほ乳類動物における妊娠開始を早めることに有効であると考えられる。

【0057】

「走化性／化学運動性活性」

本発明の蛋白は、例えば、単球、好中球、T細胞、マスト細胞、好酸球、および内皮細胞、あるいはそのいずれかを含む、哺乳動物の細胞に対して（例えば、ケモカインとして働く）走化性／化学運動性活性を有すると考えられる。走化性／化学運動性蛋白は、反応の望まれる部位へ、望まれる細胞集団を固定化あるいは引き寄せるため使用されることが可能である。走化性／化学運動性蛋白は、局所的な感染と同様に、創傷および他の外傷の治療に特別な優位性を提供する。例えば、リンパ球、単球、あるいは好中球を腫瘍あるいは感染部位へ引き寄せることは、腫瘍あるいは感染部位に対する免疫応答を改善する結果となると考えられる。

【0058】

蛋白やペプチドは、もしそれが直接あるいは間接に特殊な細胞集団に対して指示された方向あるいは運動を刺激可能であれば、そのような細胞集団に対する走化性活性を保持している。望ましくは、その蛋白やペプチドは、細胞の指示された運動を直接的に刺激する活性を保持する。特別な蛋白がある集団の細胞に対し走化性活性を保持するか否かは、どんな既知の細胞走化性のアッセイ法にそのような蛋白あるいはペプチドを使用しても容易に決定できる。

【0059】

## 「凝血および血栓活性」

本発明の蛋白は、凝血あるいは血栓活性も示すと考えられる。結果として、そのような蛋白は、様々な凝固障害（血友病のような遺伝性障害を含む）の治療に有効であると予期される。あるいは、外傷、手術あるいは他の原因により生じた創傷の治療における凝固および他の凝血事象を促進させることが予期される。本発明の蛋白は、血栓の形成の溶解あるいは阻害、および（血栓あるいは卒中等）それより生じる状態の治療および予防にも効果があると考えられる。

【0060】

## 「受容体／リガンド活性」

本発明の蛋白は、受容体、受容体／リガンドあるいは受容体／リガンドのインヒビターあるいはアゴニストとしての活性を示す可能性もある。そのような受容体およびリガンドの例として、サイトカイン受容体およびそのリガンド、受容体キナーゼおよびそのリガンド、受容体フォスファターゼおよびそのリガンド、細胞間相互作用に関連した受容体（制限するものではないが、（Selectin, Integrin, およびそのリガンド、受容体キナーゼを含む）細胞接着分子を含む）およびそのリガンド、および抗原提示、抗原認識、および細胞性および液性免疫反応の発達に係わる受容体／リガンドの組み合わせが挙げられるが、本発明を制限するものではない。受容体およびリガンドは、その相互作用に対する可能なペプチドあるいは小分子のインヒビターのスクリーニングにも有効である。本発明の蛋白は、（受容体およびリガンドの断片を含むが、制限されるものではない）それ自身受容体／リガンドの相互作用のインヒビターとして有効であると考えられる。

【0061】

## 「栄養剤としての利用」

本発明の蛋白は栄養源または栄養補給剤としても使用できる。このような使用には、制限はされないが、蛋白、アミノ酸の補給、炭素源、窒素源としての使用、炭水化物源としての使用が含まれる。そのような場合において、本発明の蛋白は各生物の食物に添加できるし、また粉末や錠剤、溶液、懸濁液、カプセルなどの剤型のように、分離した個体または液体の状態で服用できる。微生物の場合、本発明の蛋白を培養液中に添加することもできる。

## 【0062】

## 「カドヘリン／腫瘍転移抑制活性」

カドヘリンはカルシウム依存性接着分子であり、個体発生において特に特異的に細胞種を認識する際に主要な役割を果たすことが明らかとなっている。通常のカドヘリンの発現の欠失または変化により、腫瘍の増殖または転移につながる細胞接着性の変化が起こりうる。カドヘリンの機能不全はまた尋常性天疱瘡や落葉性天疱瘡（自己免疫発斑皮膚病）、クローン病、いくつかの発生異常のようなヒトの別の疾病にも関連している。

## 【0063】

カドヘリンスーパーファミリーのメンバーは40を越え、個々に異なる発現パターンを示す。カドヘリンスーパーファミリーのすべてのメンバーは共通の保存された細胞外リピート（カドヘリンドメイン）を有するが、分子の別の部位においては構造上の差異が認められる。カドヘリンドメインはカルシウムと結合しカドヘリン間で4次構造を形成するのでカルシウムは接着に必須である。最初のカドヘリンドメインの数個のアミノ酸のみがホモフィリックな接着に必須である。この認識部位の修飾によりカドヘリンの特異性を変えることが可能であるので、変異分子はそれ自身だけを認識するのではなく、異なるカドヘリンとも結合可能となる。またいくつかのカドヘリンは異なるカドヘリンとヘテロフィリックな接着をする。

## 【0064】

E-カドヘリンはカドヘリンスーパーファミリーのメンバーのひとつで上皮細胞系で発現している。もしE-カドヘリンの発現が腫瘍でみられない場合、病理



学的には悪性細胞が浸潤し、癌が転移する。癌細胞株にE-カドヘリンの遺伝子をトランスフェクトした場合、細胞の形が通常に戻り、細胞間や基質への接着性が保たれ、細胞増殖速度が遅くなり、足場非依存的な細胞増殖が劇的に減少することにより、癌にともなう変化が元に戻る。このように導入したE-カドヘリンの発現により癌の進行が低いステージに戻る。また別のカドヘリンは別の組織由来の癌において同じ浸潤抑制の機能をもつと考えられる。そこでカドヘリン活性を有する本発明の蛋白とそれをコードする本発明の遺伝子は癌の治療に用いることができる。このような蛋白または遺伝子を癌細胞に導入することは、通常のカドヘリンの発現を供給することにより、癌細胞においてみられる変化を減少または排除することができる。

## 【0065】

癌細胞はまた異なる組織のカドヘリンの発現を示すことがある。この結果このような細胞は体内の異なる組織に浸潤、転移することができるようになる。このような細胞において、カドヘリン活性を有する本発明の蛋白とそれをコードする本発明の遺伝子は異所発現したカドヘリンに置換されうる。その結果、通常の細胞の接着性を保ち、転移性を減少または排除する。

## 【0066】

またカドヘリン活性を有する本発明の蛋白とそれをコードする本発明の遺伝子はカドヘリンを認識し結合する抗体の産生に利用できる。このような抗体は癌細胞に異所発現したカドヘリンの結合をブロックすることに使用でき、癌の形成を妨げる。このような抗カドヘリン抗体はまた癌のグレード、病理学的タイプ、予後に対するマーカーとして使用できる。すなわち、より癌が進行していればカドヘリンの発現はより低いであろうし、カドヘリン発現の減少はカドヘリンに結合する抗体を用いることにより検出することができる。

## 【0067】

またカドヘリン活性を有する本発明の蛋白の断片、好ましくはカドヘリン認識部位の10個のペプチド、およびこのような本発明の蛋白断片をコードする遺伝子はカドヘリンと結合し、好ましくない効果をもたらすカドヘリンの結合を妨げることにより、カドヘリンの機能をブロックすることにも使用できる。さらにカ

ドヘリン活性を有する本発明の蛋白の断片、好ましくは癌患者で安定して循環しているトランケートした可溶化カドヘリン断片、およびそのような本発明の蛋白断片をコードする遺伝子は固有の細胞間の接着を阻害することに使用できる。

【0068】

「腫瘍抑制活性」

上記の免疫学的処置または腫瘍の予防の活性に加えて、本発明の蛋白は別の抗腫瘍活性を示す可能性がある。蛋白は直接的に、または例えばADCCを通してのような間接的に腫瘍の増殖を阻害すると考えられる。また蛋白は、腫瘍組織または腫瘍前駆組織に作用することにより、腫瘍の増殖を支持するために必要な組織の形成を阻害する（例えば血管新生を阻害する）ことにより、腫瘍の増殖を阻害する別の因子、活性物質または細胞種を産生することにより、腫瘍の増殖を促進する因子、活性物質または細胞種を除去または阻害することにより腫瘍阻害活性を示す可能性がある。

【0069】

「他の活性」

本発明の蛋白は、以下に示す付加的な活性あるいは効果の一つあるいはそれ以上を示すと考えられる：細菌、ウイルス、カビ、および他の寄生虫を含む感染性の物質を殺傷する；身長、体重、髪の色、目の色、肌あるいは他の組織の色素沈着、あるいは器官の大きさ（例えば胸部増量あるいは減量）等、身体的特徴に効果を及ぼす（抑制するあるいは促進）；食餌脂肪、蛋白、あるいは炭水化物の分解に効果；食欲、性欲、ストレス、認識（認識障害）、鬱病、暴力行動を含む行動特徴に効果を及ぼす；鎮痛効果あるいは他の痛みを減少させる効果を提供する；胚性幹細胞の造血系以外の他の系統への分化および増殖を促進する；および、酵素の場合、その酵素の欠失を補う、および関連疾患の治療。

【0070】

上記活性を有する蛋白は、例えば、B細胞、T細胞、肥満細胞の増殖または細胞死、免疫グロブリンのクラススイッチ促進によるクラス特異的誘導、B細胞の抗体産生細胞への分化、顆粒球前駆細胞の増殖または分化、細胞死、単球・マクロファージ前駆細胞の増殖または分化、細胞死、好中球、単球・マクロファージ

、好酸球、好塩基球の増殖または機能亢進、細胞死、巨核球前駆細胞の増殖または細胞死、好中球前駆細胞の増殖または分化、細胞死、BまたはT前駆細胞の増殖または分化、細胞死、赤血球の産生促進、赤血球、好中球、好酸球、好塩基球、単球・マクロファージ、肥満細胞、巨核球前駆細胞の増殖支持、好中球、単球・マクロファージ、B細胞またはT細胞の遊走促進、胸腺細胞の増殖または細胞死、脂肪細胞の分化抑制、ナチュラルキラー細胞の増殖または細胞死、造血幹細胞の増殖または細胞死、幹細胞および各種造血前駆細胞の増殖抑制、間葉系幹細胞からの骨芽細胞、軟骨細胞への分化促進または増殖、細胞死、あるいは破骨細胞の活性化や単球から破骨細胞への分化促進による骨吸収の促進の作用を本ポリペプチドのみで、またリガンド・レセプター間の結合を介して、あるいは他の分子と相乗的に働くことにより有すると考えられる。

#### 【0071】

また本ポリペプチドは神経系にも作用することが予測されるので、各種神経伝達物質作動性神経細胞への分化ならびにそれらの生存維持または細胞死、グリア細胞の増殖促進または細胞死、神経突起の伸展、神経節細胞の生存維持または細胞死、アストロサイトの増殖または分化促進または細胞死、末梢神経の増殖または生存維持、細胞死、シュワン細胞の増殖または細胞死、運動神経の増殖または生存維持、細胞死の作用もあると考えられる。

#### 【0072】

さらに、本ポリペプチドは初期胚の発生過程において、外胚葉誘導作用による表皮、脳、背骨、神経の器官形成、中胚葉誘導作用による背索結合組織（骨、筋肉、腱）、血球細胞、心臓、腎臓、生殖巣の器官形成、あるいは内胚葉誘導作用による消化器系臓器（胃、腸、肝臓、膵臓）、呼吸器系（肺、気管）の形成に促進的または抑制的に作用すると考えられるとともに、生体においても上記器官の増殖あるいは増殖抑制作用を有すると考えられる。

#### 【0073】

したがって、本発明のポリペプチドはそれ自身で、免疫系または神経系もしくは骨代謝の機能の低下または亢進に関する疾患、または造血系細胞の発育不全または異常増殖、例えば、炎症性疾患（リウマチ、潰瘍性大腸炎等）、骨髄移植後

の造血幹細胞の減少症、ガン、白血病に対する放射線照射または化学療法剤投与後の白血球、血小板、B細胞またはT細胞の減少症、貧血、感染症、ガン、白血病、AIDS、骨代謝異常（骨粗鬆症等）、動脈硬化、各種変性疾患（アルツハイマー病、多発性硬化症等）、あるいは神経損傷の予防または治療薬、として用いることが期待される。

【0074】

また本ポリペプチドは、外胚葉、中胚葉または内胚葉由来器官の分化、増殖作用を有すると考えられるので、各器官（表皮、骨、筋肉、腱、心臓、腎臓、胃、腸、肝臓、脾臓、肺、気管等）の組織修復剤として用いることも期待される。

【0075】

また、該ポリペプチドのポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を用いて、生体における該ポリペプチドの定量が行え、これによって該ポリペプチドと疾患との関係の研究あるいは疾患の診断等に利用することができる。ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体は該ポリペプチドあるいはその断片を抗原として用いて公知の方法により作製することができる。

【0076】

また該ポリペプチドを用いることにより、例えばアフィニティーカラムを作製して、本ポリペプチドと結合する既知または未知の蛋白（リガンド）の同定、精製あるいはその遺伝子クローニングを行うことができる。

また該ポリペプチドを用いて、例えばウエストウエスタン法により、または該cDNA（好ましくは該ポリペプチドをコードするcDNAを用いて、例えば酵母2-ハイブリッド法により該ポリペプチドと相互作用する分子の同定、遺伝子クローニングを行うこともできる。

【0077】

さらに本ポリペプチドを用いることによって、本ポリペプチドレセプターアゴニスト、アンタゴニストおよび受容体-シグナル伝達分子間の阻害剤等のスクリーニングを行うこともできる。

スクリーニングは、例えば、以下の方法により行なうことが出来る。すなわち、

a) 本発明のポリペプチド、スクリーニングすべき化合物、及び細胞を含む反応混

合物を、細胞が該ペプチドにより正常に刺激される条件下に一緒にし（該反応混合物は細胞が増殖するに従い細胞中に導入される標識および該ペプチドの機能を効果的に観察させるための該ペプチド以外のペプチドを含む）；ついで

b)細胞の増殖の程度を測定して、該化合物が有効なアンタゴニストまたはアゴニストであるかどうかを決定する。

【0078】

より詳細には、以下のようにして行なわれる。すなわち：

ラット血管平滑筋細胞株（ATCC CRL-1444またはCRL-1476）をプレートにまい、10%血清存在下で24時間培養した後、望ましくは1、10または50ng/ml濃度のヒトPDGF-BB（GENZYME社製）を含む無血清培地に交換する。A55蛋白のアンタゴニスト活性を有する化合物をスクリーニングする場合は、その際ヒトA55蛋白とスクリーニングすべき化合物を同時に添加した後、24時間培養後に<sup>3</sup>H-チミジンを添加し、その4時間培養後に細胞に取りこまれた<sup>3</sup>Hを測定することによって、A55蛋白の<sup>3</sup>H-チミジン取り込抑制活性を阻害する化合物をスクリーニングができる。A55蛋白のアゴニスト活性を有する化合物をスクリーニングする場合は、上記細胞にスクリーニングすべき化合物を添加した後、24時間培養後に<sup>3</sup>H-チミジンを添加し、その4時間培養後に細胞に取りこまれた<sup>3</sup>Hを測定することによって、<sup>3</sup>H-チミジン取り込抑制活性を有する化合物をスクリーニングができる。

【0079】

本発明のcDNAは、多大な有用性が期待される本発明のポリペプチドを生産する際の重要かつ必須の鋳型となるだけでなく、遺伝病の診断や治療（遺伝子欠損症の治療またはアンチセンスDNA（RNA）によって、ポリペプチドの発現を停止させることによる治療等）に利用できる。また、本発明のcDNAをプローブとしてジェノミック（genomic）DNAを分離できる。同様にして、本発明cDNAと相同性の高いヒトの関連ポリペプチドの遺伝子、またマウス以外の生物における本発明ポリペプチドと相同性の高いポリペプチドの遺伝子を分離することも可能である。

【0080】

【医薬品への適用】

前記の疾患に適応するために、本発明のポリペプチド、あるいは本発明のポリペプチドに対する抗体は通常、全身的又は局所的に、一般的には経口または非経口の形で投与される。好ましくは、経口投与、静脈内投与および脳室内投与である。

【0081】

投与量は、年齢、体重、症状、治療効果、投与方法、処理時間等により異なるが、通常、成人一人あたり、一回につき、 $100\mu\text{g}$ から $100\text{mg}$ の範囲で、一日一回から数回経口投与されるかまたは、成人一人あたり、一回につき、 $10\mu\text{g}$ から $100\text{mg}$ の範囲で、一日一回から数回非経口投与される。

もちろん前記したように、投与量は、種々の条件により変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあるし、また範囲を越えて必要な場合もある。

【0082】

本発明化合物を投与する際には、経口投与のための固体組成物、液体組成物およびその他の組成物、非経口投与のための注射剤、外用剤、坐剤等として用いられる。

経口投与のための固体組成物には、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤等が含まれる。カプセルには、ソフトカプセルおよびハードカプセルが含まれる。

【0083】

このような固体組成物においては、一つまたはそれ以上の活性物質が、少なくとも一つの不活性な希釈剤（例えば、ラクトース、マンニトール、グルコース、ヒドロキシプロピルセルロース、微結晶セルロース、デンプン、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム等）と混合される。組成物は、常法に従って、不活性な希釈剤以外の添加物、例えば、潤滑剤（ステアリン酸マグネシウム等）、崩壊剤（繊維素グリコール酸カルシウム等）、安定化剤（ヒト血清アルブミン、ラクトース等）、溶解補助剤（アルギニン、アスパラギン酸等）を含有していてもよい。

【0084】

錠剤または丸剤は、必要により白糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロー

ス、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート等の胃溶性あるいは腸溶性のフィルムで被膜してもよいし、また2以上の層で被膜してもよい。さらにゼラチンのような吸収されうる物質のカプセルも包含される。

## 【0085】

経口投与のための液体組成物は、薬学的に許容される乳濁剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤等を含み、一般に用いられる不活性な希釈剤（例えば、精製水、エタノール等）を含んでいてもよい。この様な組成物は、不活性な希釈剤以外に湿潤剤、懸濁剤のような補助剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、防腐剤を含有していてもよい。

## 【0086】

経口投与のためのその他の組成物としては、ひとつまたはそれ以上の活性物質を含み、それ自体公知の方法により処方されるスプレー剤が含まれる。この組成物は不活性な希釈剤以外に亜硫酸水素ナトリウムのような安定剤と等張性を与えるような安定化剤、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウムあるいはクエン酸のような等張剤を含有していてもよい。スプレー剤の製造方法は、例えば米国特許第2,868,691号および同第3,095,355号明細書に詳しく記載されている。

## 【0087】

本発明による非経口投与のための注射剤としては、無菌の水性または非水性の溶液剤、懸濁剤、乳濁剤を包含する。水性または非水性の溶液剤、懸濁剤としては、一つまたはそれ以上の活性物質が、少なくとも一つの不活性な希釈剤と混合される。水性の希釈剤としては、例えば注射用蒸留水および生理食塩水が挙げられる。非水性の希釈剤としては、例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、エタノールのようなアルコール類、ポリソルベート80（登録商標）等が挙げられる。

## 【0088】

このような組成物は、さらに防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ラクトース等）、溶解補助剤（例えば、アルギニン、アスパラギン酸等）のような補助剤を含んでいてもよい。

## 【0089】

# 【実施例】

以下に本発明のクローン A 5 5 に関する実施例を挙げて本発明をより具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を制限するものではない。

## 実施例 1

### poly(A)<sup>+</sup>RNAの調製

マウス18.5日胎児心臓組織よりTRIzol reagent (登録商標、GIBCOBRLより購入)を用いて全RNAを抽出し、mRNA Purification Kit (商品名、Pharmaciaより購入)を用いてpoly(A)<sup>+</sup>RNAを精製した。

## 実施例 2

### 酵母 S S T cDNAライブラリーの作製

上記のpoly(A)<sup>+</sup>RNAを鋳型にXhoI部位を連結したランダム9mer

5'-CGA TTG AAT TCT AGA CCT GCC TCG AGN NNN NNN NN-3'

をプライマーとして、SuperScript Plasmid System for cDNA Synthesis and Plasmid Cloning (商品名、GIBCOBRLより購入)を用いて2本鎖cDNAの合成を行った。EcoRIアダプター (GIBCOBRLより購入)をDNA ligation kit ver.2 (商品名 宝酒造(株)より購入。以後cDNAの連結はすべて本キットを使用した。)を用いて連結した後、XhoIで消化し、アガロース電気泳動で300~800bpのcDNAを切り出して分画し、pSUC2 (米国特許5,536,637号参照)のEcoRI/NotI部位に連結し、大腸菌DH10B株にエレクトロポレーション法で形質転換して酵母SST用のcDNAライブラリーを得た。

## 実施例 3

SSTによるスクリーニングおよびSST陽性クローンの塩基配列の決定

このcDNAライブラリーのプラスミドを調製し、酢酸リチウム法 (Current Protocols In Molecular Biology 13.7.1を参照)により酵母YTK12株を形質転換し、トリプトファン(Trp)不含の酵母形質転換体の選択培地 (CMD-Trp培地)のプレート上にまいた。30℃で48時間インキュベートした後、Accutran Replica Plater (商品名、Schleicher&Schuellより購入)を用いて得られたコロニー (形質転換体)のレプリカをラフィノースを炭素源とするYPRプレートにとり、30℃で14日間インキュベートした。3日目以降、出現してきた各々のコロニーを一つづ



つ再度YPRプレートにストリークして30℃で48時間インキュベートした後、シングルコロニーをYPD培地に植菌し、30℃で48時間インキュベートした後、プラスミドを調製した。続いてpSUC2のクローニングサイトの両端の配列の2種類のプライマー（センス鎖はビオチン化プライマー）を用いて公知の方法に従ってPCRを行い、インサートcDNAを増幅した後、Dynabeads（商品名、DYNALより購入）を用いてビオチン化1本鎖cDNAを精製し、塩基配列の決定を行った。塩基配列の決定はDNA Sequencing kit（Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction）（商品名、Applied Biosystems Inc.より購入）を用いた蛍光ダイターミネーターサイクルシーケンス法で反応を行い、自動DNAシーケンサー373（Applied Biosystems Inc.）で読み取りを行った（以降塩基配列決定はすべて本方法で行った。）。

#### 【0090】

得られた塩基配列および推定されるアミノ酸配列についてデータベースとの相同性検索を行い、A55と名付けられたクローンがデータベースに登録されていない新規のcDNAであることが明らかとなった。そこでこのA55クロンの断片cDNA（以後、A55 SST断片cDNAと呼ぶ）について全長cDNAのクローニングを試みた。また推定されるアミノ酸配列を既知のシグナルペプチドと比較することによりA55 SST断片cDNAが機能的かつ構造的にもシグナルペプチドを有することを確認した。

#### 実施例4

##### 全長cDNAのクローニングおよび塩基配列の決定

マウス心臓（13日胎児）cDNAライブラリー（Uni-ZAP XR）（Stratageneより購入）より得られた100万プラークをナイロンメンブレンにトランスファーした。<sup>32</sup>P標識したマウスA55 SST断片cDNAをプローブとして、公知の方法にしたがいハイブリダイゼーションを行い、多数の陽性クローンを得た。その中の1クローンを単離して、大腸菌DH5αに形質転換してプラスミドを調製した。初めに5'側の塩基配列を決定してマウスA55 SST断片cDNAの塩基配列が存在することを確認した後、全塩基配列を決定し、配列番号3に示す配列を得た。さらにオープンリーディングフレームを決定し、配列番号2に示すアミ

ノ酸翻訳領域および配列番号1に示す推定アミノ酸配列を得た。本ポリペプチドの成熟タンパクは、配列番号3に示される(144...1418)425アミノ酸または、配列番号4に示される423アミノ酸であると推定される。配列番号5は、配列番号4のポリペプチドの翻訳領域を表わす。

#### 【0091】

核酸配列データベースに登録されている既知の核酸配列に対してBLASTNおよびFASTAにより、またアミノ酸配列データベースに登録されている既知のポリペプチドのアミノ酸配列に対してBLASTX、BLASTPおよびFASTAにより検索した結果、本発明のポリペプチド(ポリペプチドマスA55蛋白と呼ぶ)およびそれをコードする核酸配列と一致する配列はなかった。さらに得られたアミノ酸配列の疎水性プロットによる解析から、本発明のポリペプチドマウスA55は膜貫通領域を持たないことも明らかとなり、本発明のポリペプチドマウスA55は、新規の分泌蛋白質であることが判明した。

#### 【0092】

しかし、モチーフ検索の結果から、A55は6カ所のEGF様ドメインを有することが判明した。この結果に基づいて、クローンA55は、少なくともEGFファミリーと同様な活性を保持すると期待される。またBLASTX、BLASTPおよびFASTAは、クローンマウスA55(配列番号1のアミノ酸配列1-448間の領域)とヒトS1-5(SwissProt Accession HSU03877)のアミノ酸配列1-387間の領域)の間に有為な相同性があることを示した。ヒトS1-5は繊維芽細胞より増殖抑制時に発現が誘導される分泌蛋白で、細胞増殖に関連した活性を有することが報告されている(Beata Lecka-Czernik et.al. Mol.Cell.Biol.15 120-128 1995)。さらにその他のEGF様ドメインを有する多くの蛋白とも相同性を示した。

#### 実施例5

マウスA55蛋白アイソフォーム遺伝子の単離

転写開始点を決定するためにMarathon cDNA Amplification Kit(商品名、Clontech社より購入)による5'RACE(Rapid Amplification of cDNA End)法を用いて5'末端cDNAのクローニングを行った。鋳型2本鎖cDNAの調製には、マウス胎児心臓組織のpoly(A)<sup>+</sup>RNAより作製した。全長の塩基配列の情報に基づいて

プライマー mA55-R1

5'-CGT TTG TGC ACT GCT GCT GTG CAT TCC -3'

を作製して、該キットに添付されたアダプタープライマーとでPCRを行った。増幅されたcDNAをアガロース電気泳動で分画後、pGEM-T Vector（商品名、Promegaより購入）に連結し、大腸菌DH5αに形質転換してプラスミドを調製し、全塩基配列を決定した。その結果、配列番号3で示された翻訳開始点ATGを含む5'末端配列と異なる5'末端配列を有するクローンを見出した（配列番号7および8）。染色体遺伝子の解析から、配列番号8で示されたクローンは配列3で示されたクローンのエクソン1部分が約400塩基下流に存在する別のエクソンを利用しており、選択的スプライシングによって生じたクローンであることが判明した。その結果該クローンは配列番号1で示されたN末端の6アミノ酸が配列番号6で示された19アミノ酸に置換されたアイソフォーム蛋白をコードすることが判明した。本ポリペプチドの成熟タンパクは、配列番号8に示される（340...1614）425アミノ酸または、配列番号9に示される423アミノ酸であると推定される。配列番号10は、配列番号9のポリペプチドの翻訳領域を表わす。

## 実施例 6

### ヒトA55遺伝子の塩基配列の決定

実施例4の相同性検索の過程で、本発明者らはマウスA55の塩基配列の5'末端と相同性を有するヒトEST配列（GENBANK Accession H17726）を見出した。

【0093】

そこで、本発明者らは、GENBANK Accession H17726に記載された塩基配列を有するヒト脳cDNAライブラリー由来のクローン（CloneID 50483）をアメリカンタイプカルチャーコレクション（ATCC）より入手し、マウスA55と同様の方法で全塩基配列を決定した。その結果、配列番号13に示す塩基配列を得た後、さらにオープンリーディングフレームを決定し、配列番号12に示すアミノ酸翻訳領域および配列番号11に示す推定アミノ酸配列を得た。以上のことから、該ヒトクローンは全長であること、およびマウスA55に対してDNA（アミノ酸翻訳領域）レベルで89.3%、アミノ酸レベルで94.2%一致していることが判

明し、マウス A55 に対するヒトカウンターパートであることが示唆された。(以後該ヒトクローンをヒト A55 と呼ぶ。) 本ポリペプチドの成熟タンパクは、配列番号 13 に示される (238...1512) 425 アミノ酸または、配列番号 14 に示される 423 アミノ酸であると推定される。配列番号 15 は、配列番号 14 のポリペプチドの翻訳領域を表わす。

#### 【0094】

このヒト A55 についても核酸配列データベースに登録されている既知の核酸配列に対して BLASTN および FASTA により、また アミノ酸配列データベースに登録されている既知のポリペプチドのアミノ酸配列に対して BLASTX、BLASTP および FASTA により検索したが、マウス A55 と同様に一致する配列はなかった。このことから、本発明のポリペプチドも、新規の分泌蛋白質であることが判明した。

#### 実施例 7

哺乳動物細胞を用いたマウス A55 蛋白の発現

配列番号 3 で示されたマウス全長 cDNA を哺乳動物細胞用発現ベクター pNotS (Kaufman et al., Nucleic Acids Res. 19, 4485-4490 (1991) 参照) に連結し、マウス A55 蛋白発現用プラスミド pNotS-mA55 を構築した。pNotS および pNotS-mA55 をリポフェクチン (商品名、GIBCOBRL より購入) を用いて 293T 細胞 (ATCC CRL-1573 293 細胞に SV40 T 抗原を導入した細胞株) に導入し、19 時間後に <sup>35</sup>S-メチオニン (Met) を添加した Met フリーの培地に交換して 30 分間ラベルした後、Met を含む培地で 5 時間培養を行った。細胞上清を回収後、セントリコンー 10 (商品名、Amicon より購入) にて約 10 倍に濃縮し、SDS-PAGE を行った。アクリルアミドゲルを乾燥させた後、<sup>35</sup>S でラベルされた蛋白質の発現を BAS2000 (富士フィルム) を用いて検出した。その結果 pNotS-mA55 を導入した 293T 細胞の培養上清には、発現ベクター pNotS のみを導入した 293T 細胞の培養上清には認められないバンドが 60-70kDa 付近に検出された。このことから組み換えマウス A55 蛋白が発現し、培養上清中に分泌していることが確認された。このマウス A55 組み換え蛋白の分子量はアミノ酸組成から計算されるマウス A55 の分子量 48kDa よりも大きく、マウス A55 蛋白には 2ヶ所の N 型糖付加部位と O 型糖鎖が付加しうる Ser および Thr 残基が多数存在することから、N 型および O 型糖鎖が付加されている

と予想された。

#### 実施例 8

マウス A55 蛋白によるラット血管平滑筋細胞増殖阻害作用の測定

新生化学実験講座10「血管 内皮と平滑筋」(日本生化学会編)に記載の方法にしたがい、ラットの心臓から横隔膜に至る大動脈より血管平滑筋細胞を単離し初代培養を行った。ヒトPDGF-BB (GENZYME社製) 1, 3または10 ng/mlと同時に、実施例7の方法でpNotSまたはpNotS-mA55を導入した293T細胞の培養上清を全培地量の10%になるように添加し、細胞増殖ELISA, BrdU発色キット(商品名 ベーリンガーマンハイムより購入)の方法にしたがって、血管平滑筋細胞のBrdUの取り込を測定した。その結果図1で示したように、ラット血管平滑筋細胞はpNotSのみを導入した293T細胞の培養上清を添加した場合は無添加の場合と比較して無影響であったが、pNotS-mA55を導入した293T細胞の培養上清を添加した場合は有意なBrdUの取り込み阻害が認められた。またPDGFを1, 3, 10ng/mlの濃度で添加して、濃度依存的にラット血管平滑筋細胞におけるBrdUの取り込みを上昇させた場合においても、pNotSのみを導入した293T細胞の培養上清を同時に添加した場合は無添加の場合と比較して無影響であったが、pNotS-mA55を導入した293T細胞の培養上清を添加した場合には有意なBrdUの取り込み阻害が認められた(図1参照)。このことから、組み換えマウス A55 蛋白は血管平滑筋細胞に対して増殖阻害活性を有することが明らかとなった。

#### 実施例 9

哺乳動物細胞を用いたヒト A55 蛋白の発現

配列番号13で示されたヒト全長cDNAを哺乳動物細胞用発現ベクターpNotS (Kaufman et al., Nucleic Acids Res.19,4485-4490(1991)参照)の下流に連結し、ヒト A55 蛋白発現用プラスミドpNotS-hA55を構築した。pNotSおよびpNotS-hA55をリポフェクチン(商品名、GIBCOBRLより購入)を用いてCos1細胞に導入し、24時間後にMetフリーの培地に交換した後、<sup>35</sup>S-Met, <sup>35</sup>S-Cysを添加して5時間培養を行った。細胞上清を回収後、セントリコン-10(商品名、Amiconより購入)にて約10倍に濃縮し、SDS-PAGEを行った。アクリルアミドゲルを乾燥させた後、<sup>35</sup>Sでラベルされた蛋白質の発現をBAS2000(富士フィルム)を用い

て検出した。その結果、pNotS-hA55を導入したCos1細胞の培養上清には、発現ベクターのみを導入したCos1細胞の培養上清には認められないバンドが60-70kDa付近に検出された。このことから組み換えヒトA55蛋白が発現し、培養上清中に分泌していることが確認された。またマウスA55と同様にヒトA55蛋白も糖鎖が付加されていると予想された。

#### 実施例10

ヒトA55蛋白によるラット血管平滑筋細胞株増殖阻害作用の測定

配列番号13の238番目から1515番目のDNAおよび配列番号15で示されたcDNAにストップコドンが付加したDNAをそれぞれ、ミツバチのメラティンのシグナルペプチドに続いて6個のヒスチジン残基が連続したタグ配列およびエンテロキナーゼ切断配列をコードするDNAの3'下流に連結して、哺乳動物細胞用発現ベクターpNotSのプロモーターの下流に挿入し、ヒトA55蛋白発現用プラスミドを構築した。発現ベクターのみおよびヒトA55蛋白発現用ベクターをリポフェクチン（商品名、GIBCOBRLより購入）を用いてCos1細胞に導入し、細胞上清を回収後、エンテロキナーゼで消化し、ニッケルカラムで切断されたリンカー配列を除去した。さらにセントリコン-10（商品名、Amiconより購入）にて元の培養上清に対して約10倍に濃縮した。

#### 【0095】

ラット血管平滑筋細胞株（ATCC CRL-1444）を96穴プレートにまいて、10%血清存在下で24時間培養した後、各種濃度（1, 10または50ng/ml）のヒトPDGF-B（GENZYME社製）を含む無血清培地に交換した。その際同時に上記の方法で処理した発現ベクターのみまたはヒトA55蛋白発現用ベクターを導入したCos1細胞の培養上清を培地量の10%になるように添加した。24時間培養後に $^3\text{H}$ -チミジン0.5mCi/穴を添加し、4時間培養後に細胞に取りこまれた $^3\text{H}$ を測定した。その結果図2に示したように、PDGFを1, 10, 50ng/mlの濃度で添加し、濃度依存的にラット平滑筋細胞株における $^3\text{H}$ -チミジンの取り込みを上昇させた場合において、発現ベクターのみを導入したCos1細胞の培養上清を同時に添加した場合は、無添加の場合と比較して無影響であったが、ヒトA55蛋白発現用ベクターを導入したCos1細胞の培養上清を添加した場合には顕著な $^3\text{H}$ -チミジンの取り込み低下が認め

られた(図2参照)。さらに別のラット血管平滑筋細胞株(ATCC CRL-1476およびCRL-2018)とヒト血管平滑筋細胞株(ATCC CRL-1999)においても同様の活性が認められた。このことから、組み換えヒトA55蛋白はマウスA55蛋白と同様に血管平滑筋細胞に対する増殖阻害活性を有することが明らかとなった。

#### 【0096】

また培養上清を添加して、24時間培養後に細胞を顕微鏡下で観察すると、pNotS-hA55を導入したCos1細胞の培養上清を添加した場合にのみ、血管平滑筋細胞の形態変化が認められた。しかし同様の実験においてメラノーマ細胞株SK-MEL-28の形態には無影響であった。さらにヒトA55蛋白はケモカインJEおよびKCの発現を誘導することも明らかとなった。

#### 実施例 11

##### 抗A55蛋白ポリクローナル抗体の作製

固相法により合成した3種類のマウスA55部分ペプチド

RTNPVYRGPYSNPYSTSYSG(71-90)(配列番号1の48-67)

GAYYIFQIKSGNEGREFYMR(376-395)(配列番号1の353-372)

MTRPIKGPRDIQLDLEMITVN(406-426)(配列番号1の383-403)

を免疫原としてウサギに免疫して、抗体価の測定後血清を採取した。得られた血清を各々免疫原としたペプチド断片を結合させたアフィニティーカラムにより抗マウスA55蛋白ポリクローナル抗体を精製した。実施例7と同じ方法で調製した培養上清をSDS-PAGEにかけた後、蛋白をアクリルアミドゲルからイモビロネーP(PVDF膜、商品名、ミリポアより購入)にトランスファーした。作製した抗マウスA55ポリクローナル抗体を一次抗体としてECLキット(商品名 アマシャムより購入)を用いて発色し、組み換えマウスA55蛋白を検出した。その結果、マウスA55発現ベクターpNotS-mA55を導入した細胞の培養上清には実施例7で記載した35Sラベルの実験と同じ位置である60kDa付近に単一のバンドが検出された。一方発現ベクターpNotSのみを導入した細胞の上清には60kDa付近にバンドは検出されなかった。このことから得られたポリクローナル抗体はマウスA55蛋白を特異的に認識していることが確認された。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】 PDGF刺激によるラット大動脈血管平滑筋細胞の増殖に対し、マウスA55タンパクが阻害する様子を表わす。

【図2】 PDGF刺激によるラット大動脈血管平滑筋細胞の増殖に対し、ヒトA55タンパクが阻害する様子を表わす。

【配列表】

配列番号：1

配列の長さ : 448

配列の型: アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類: タンパク質

配列

Met Pro Gly Leu Lys Arg Ile Leu Thr Val Thr Ile Leu Ala Leu Trp

-23                  -20                                  -15    -10

Leu Pro His Pro Gly Asn Ala Gln Gln Gln Cys Thr Asn Gly Phe Asp

Leu Asp Arg Gln Ser Gly Gln Cys Leu Asp Ile Asp Glu Cys Arg Thr

10	15	20	25
----	----	----	----

Ile Pro Glu Ala Cys Arg Gly Asp Met Met Cys Val Asn Gln Asn Gly

30 35 40

Gly Tyr Leu Cys Ile Pro Arg Thr Asn Pro Val Tyr Arg Gly Pro Tyr

45 50 55

Ser Asn Pro Tyr Ser Thr Ser Tyr Ser Gly Pro Tyr Pro Ala Ala Ala

60 65 70

Pro Pro Val Pro Ala Ser Asn Tyr Pro Thr Ile Ser Arg Pro Leu Val

75                      80                      85

Cys Arg Phe Gly Tyr Gln Met Asp Glu Gly Asn Gln Cys Val Asp Val

90 95 100 105

Asp Glu Cys Ala Thr Asp Ser His Gln Cys Asn Pro Thr Gln Ile Cys

110 115 120



Ile Asn Thr Glu Gly Gly Tyr Thr Cys Ser Cys Thr Asp Gly Tyr Trp  
125 130 135

Leu Leu Glu Gly Gln Cys Leu Asp Ile Asp Glu Cys Arg Tyr Gly Tyr  
140 145 150

Cys Gln Gln Leu Cys Ala Asn Val Pro Gly Ser Tyr Ser Cys Thr Cys  
155 160 165

Asn Pro Gly Phe Thr Leu Asn Asp Asp Gly Arg Ser Cys Gln Asp Val  
170 175 180 185

Asn Glu Cys Glu Thr Glu Asn Pro Cys Val Gln Thr Cys Val Asn Thr  
190 195 200

Tyr Gly Ser Phe Ile Cys Arg Cys Asp Pro Gly Tyr Glu Leu Glu Glu  
205 210 215

Asp Gly Ile His Cys Ser Asp Met Asp Glu Cys Ser Phe Ser Glu Phe  
220 225 230

Leu Cys Gln His Glu Cys Val Asn Gln Pro Gly Ser Tyr Phe Cys Ser  
235 240 245

Cys Pro Pro Gly Tyr Val Leu Leu Asp Asp Asn Arg Ser Cys Gln Asp  
250 255 260 265

Ile Asn Glu Cys Glu His Arg Asn His Thr Cys Thr Ser Leu Gln Thr  
270 275 280

Cys Tyr Asn Leu Gln Gly Gly Phe Lys Cys Ile Asp Pro Ile Ser Cys  
285 290 295

Glu Glu Pro Tyr Leu Leu Ile Gly Glu Asn Arg Cys Met Cys Pro Ala  
300 305 310

Glu His Thr Ser Cys Arg Asp Gln Pro Phe Thr Ile Leu Tyr Arg Asp  
315 320 325

Met Asp Val Val Ser Gly Arg Ser Val Pro Ala Asp Ile Phe Gln Met  
330 335 340 345

Gln Ala Thr Thr Arg Tyr Pro Gly Ala Tyr Tyr Ile Phe Gln Ile Lys

350 355 360  
 Ser Gly Asn Glu Gly Arg Glu Phe Tyr Met Arg Gln Thr Gly Pro Ile  
 365 370 375  
 Ser Ala Thr Leu Val Met Thr Arg Pro Ile Lys Gly Pro Arg Asp Ile  
 380 385 390  
 Gln Leu Asp Leu Glu Met Ile Thr Val Asn Thr Val Ile Asn Phe Arg  
 395 400 405  
 Gly Ser Ser Val Ile Arg Leu Arg Ile Tyr Val Ser Gln Tyr Pro Phe  
 410 415 420 425

【配列表】

配列番号：2

配列の長さ：1344

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

配列

ATGCCAGGAT TAAAAAGGAT ACTCACTGTT ACCATCTTGG CACTCTGGCT TCCACATCCT 60  
 GGGAATGCAC AGCAGCAGTG CACAAACGGC TTTGACCTGG ACCGCCAGTC AGGACAGTGT 120  
 CTAGATATTG ATGAATGCCG GACCATCCCT GAGGCTTGTC GTGGGGACAT GATGTGTGTC 180  
 AACCAGAATG GCGGGTATTT GTGCATCCCT CGAACCAACC CAGTGTATCG AGGGCCTTAC 240  
 TCAAATCCCT ACTCTACATC CTAATCAGGC CCATACCCAG CAGCGGCCCC ACCAGTACCA 300  
 GCTTCCAACCT ACCCCACGAT TTCAAGGCCT CTTGTCTGCC GCTTTGGGTA TCAGATGGAT 360  
 GAAGGCAACC AGTGTGTGGA TGTGGACGAG TGTGCAACAG ACTCACACCA GTGCAACCCCT 420  
 ACCCAGATCT GTATCAACAC TGAAGGAGGT TACACCTGCT CCTGCACCGA TGGGTACTGG 480  
 CTTCTGGAAG GGCAGTGCCT AGATATTGAT GAATGTCGCT ATGGTTACTG CCAGCAGCTC 540  
 TGTGCAAATG TTCCAGGATC CTATTCCTGT ACATGCAACC CTGGTTTCAC CCTCAACGAC 600  
 GATGGAAGGT CTTGCCAAGA TGTGAACGAG TGCGAACTG AGAATCCCTG TGTTCAGACC 660  
 TGTGTCAACA CCTATGGCTC TTTCATCTGC CGCTGTGACC CAGGATATGA ACTTGAGGAA 720

GATGGCATTCT ACTGCAGTGA TATGGACGAG TGCAGCTTCT CCGAGTTCCT CTGTCAACAC 780  
 GAGTGTGTGA ACCAGCCGGG CTCATACTTC TGCTCGTGCC CTCCAGGCTA CGTCCTGTTG 840  
 GATGATAACC GAAGCTGCCA GGATATCAAT GAATGTGAGC ACCGAAACCA CACGTGTACC 900  
 TCACTGCAGA CTTGCTACAA TCTACAAGGG GGCTTCAAAT GTATTGATCC CATCAGCTGT 960  
 GAGGAGCCTT ATCTGCTGAT TGGTGAAAAC CGCTGTATGT GTCCTGCTGA GCACACCAGC 1020  
 TGCAGAGACC AGCCATTAC CATCCTGTAT CGGGACATGG ATGTGGTGTC AGGACGCTCC 1080  
 GTTCCTGCTG ACATCTTCCA GATGCAAGCA ACAACCCGAT ACCCTGGTGC CTATTACATT 1140  
 TTCCAGATCA AATCTGGCAA CGAGGGTCGA GAGTTCTATA TCGGCAAAC AGGGCCTATC 1200  
 AGTGCCACCC TGGTGATGAC ACGCCCCATC AAAGGGCCTC GGGACATCCA GCTGGACTTG 1260  
 GAGATGATCA CTGTCAACAC TGTCATCAAC TTCAGAGGCA GCTCCGTGAT CCGACTGCGG 1320  
 ATATATGTGT CGCAGTATCC GTTC 1344

【配列表】

配列番号：3

配列の長さ：2233

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：ムスムスクルス

オルガネラ：マウス 13 日胎児心臓

クローン名：mouse A 5 5

配列の特徴

特徴を表す記号：CDS

存在位置：75..1418

特徴を決定した方法：S

特徴を表す記号：sig peptide

存在位置：75..143

特徴を決定した方法：S

特徴を表す記号 : mat peptide

存在位置 : 144..1418

特徴を決定した方法 : S

配列

AATTCGGCAC GAGCCCCAGT CCCACCGCAG AGCCTGCCTT CCTCGCGTCG CTTCTCCTCC	60
CGCGCATCTT GGAT ATG CCA GGA TTA AAA AGG ATA CTC ACT GTT ACC ATC	110
Met Pro Gly Leu Lys Arg Ile Leu Thr Val Thr Ile	
-23 -20 -15	
TTG GCA CTC TGG CTT CCA CAT CCT GGG AAT GCA CAG CAG CAG TGC ACA	158
Leu Ala Leu Trp Leu Pro His Pro Gly Asn Ala Gln Gln Gln Cys Thr	
-10 -5 1 5	
AAC GGC TTT GAC CTG GAC CGC CAG TCA GGA CAG TGT CTA GAT ATT GAT	206
Asn Gly Phe Asp Leu Asp Arg Gln Ser Gly Gln Cys Leu Asp Ile Asp	
10 15 20	
GAA TGC CGG ACC ATC CCT GAG GCT TGT CGT GGG GAC ATG ATG TGT GTC	254
Glu Cys Arg Thr Ile Pro Glu Ala Cys Arg Gly Asp Met Met Cys Val	
25 30 35	
AAC CAG AAT GGC GGG TAT TTG TGC ATC CCT CGA ACC AAC CCA GTG TAT	302
Asn Gln Asn Gly Gly Tyr Leu Cys Ile Pro Arg Thr Asn Pro Val Tyr	
40 45 50	
CGA GGG CCT TAC TCA AAT CCC TAC TCT ACA TCC TAC TCA GGC CCA TAC	350
Arg Gly Pro Tyr Ser Asn Pro Tyr Ser Thr Ser Tyr Ser Gly Pro Tyr	
55 60 65	
CCA GCA GCG GCC CCA CCA GTA CCA GCT TCC AAC TAC CCC ACG ATT TCA	398
Pro Ala Ala Ala Pro Pro Val Pro Ala Ser Asn Tyr Pro Thr Ile Ser	
70 75 80 85	
AGG CCT CTT GTC TGC CGC TTT GGG TAT CAG ATG GAT GAA GGC AAC CAG	446
Arg Pro Leu Val Cys Arg Phe Gly Tyr Gln Met Asp Glu Gly Asn Gln	
90 95 100	

TGT GTG GAT GTG GAC GAG TGT GCA ACA GAC TCA CAC CAG TGC AAC CCT	494
Cys Val Asp Val Asp Glu Cys Ala Thr Asp Ser His Gln Cys Asn Pro	
105 110 115	
ACC CAG ATC TGT ATC AAC ACT GAA GGA GGT TAC ACC TGC TCC TGC ACC	542
Thr Gln Ile Cys Ile Asn Thr Glu Gly Gly Tyr Thr Cys Ser Cys Thr	
120 125 130	
GAT GGG TAC TGG CTT CTG GAA GGG CAG TGC CTA GAT ATT GAT GAA TGT	590
Asp Gly Tyr Trp Leu Leu Glu Gly Gln Cys Leu Asp Ile Asp Glu Cys	
135 140 145	
CGC TAT GGT TAC TGC CAG CAG CTC TGT GCA AAT GTT CCA GGA TCC TAT	638
Arg Tyr Gly Tyr Cys Gln Gln Leu Cys Ala Asn Val Pro Gly Ser Tyr	
150 155 160 165	
TCC TGT ACA TGC AAC CCT GGT TTC ACC CTC AAC GAC GAT GGA AGG TCT	686
Ser Cys Thr Cys Asn Pro Gly Phe Thr Leu Asn Asp Asp Gly Arg Ser	
170 175 180	
TGC CAA GAT GTG AAC GAG TGC GAA ACT GAG AAT CCC TGT GTT CAG ACC	734
Cys Gln Asp Val Asn Glu Cys Glu Thr Glu Asn Pro Cys Val Gln Thr	
185 190 195	
TGT GTC AAC ACC TAT GGC TCT TTC ATC TGC CGC TGT GAC CCA GGA TAT	782
Cys Val Asn Thr Tyr Gly Ser Phe Ile Cys Arg Cys Asp Pro Gly Tyr	
200 205 210	
GAA CTT GAG GAA GAT GGC ATT CAC TGC AGT GAT ATG GAC GAG TGC AGC	830
Glu Leu Glu Glu Asp Gly Ile His Cys Ser Asp Met Asp Glu Cys Ser	
215 220 225	
TTC TCC GAG TTC CTC TGT CAA CAC GAG TGT GTG AAC CAG CCG GGC TCA	878
Phe Ser Glu Phe Leu Cys Gln His Glu Cys Val Asn Gln Pro Gly Ser	
230 235 240 245	
TAC TTC TGC TCG TGC CCT CCA GGC TAC GTC CTG TTG GAT GAT AAC CGA	926
Tyr Phe Cys Ser Cys Pro Pro Gly Tyr Val Leu Leu Asp Asp Asn Arg	

250	255	260	
AGC TGC CAG GAT ATC AAT GAA TGT GAG CAC CGA AAC CAC ACG TGT ACC			974
Ser Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Glu His Arg Asn His Thr Cys Thr			
265	270	275	
TCA CTG CAG ACT TGC TAC AAT CTA CAA GGG GGC TTC AAA TGT ATT GAT			1022
Ser Leu Gln Thr Cys Tyr Asn Leu Gln Gly Gly Phe Lys Cys Ile Asp			
280	285	290	
CCC ATC AGC TGT GAG GAG CCT TAT CTG CTG ATT GGT GAA AAC CGC TGT			1070
Pro Ile Ser Cys Glu Glu Pro Tyr Leu Leu Ile Gly Glu Asn Arg Cys			
295	300	305	
ATG TGT CCT GCT GAG CAC ACC AGC TGC AGA GAC CAG CCA TTC ACC ATC			1118
Met Cys Pro Ala Glu His Thr Ser Cys Arg Asp Gln Pro Phe Thr Ile			
310	315	320	325
CTG TAT CGG GAC ATG GAT GTG GTG TCA GGA CGC TCC GTT CCT GCT GAC			1166
Leu Tyr Arg Asp Met Asp Val Val Ser Gly Arg Ser Val Pro Ala Asp			
330	335	340	
ATC TTC CAG ATG CAA GCA ACA ACC CGA TAC CCT GGT GCC TAT TAC ATT			1214
Ile Phe Gln Met Gln Ala Thr Thr Arg Tyr Pro Gly Ala Tyr Tyr Ile			
345	350	355	
TTC CAG ATC AAA TCT GGC AAC GAG GGT CGA GAG TTC TAT ATG CGG CAA			1262
Phe Gln Ile Lys Ser Gly Asn Glu Gly Arg Glu Phe Tyr Met Arg Gln			
360	365	370	
ACA GGG CCT ATC AGT GCC ACC CTG GTG ATG ACA CGC CCC ATC AAA GGG			1310
Thr Gly Pro Ile Ser Ala Thr Leu Val Met Thr Arg Pro Ile Lys Gly			
375	380	385	
CCT CGG GAC ATC CAG CTG GAC TTG GAG ATG ATC ACT GTC AAC ACT GTC			1358
Pro Arg Asp Ile Gln Leu Asp Leu Glu Met Ile Thr Val Asn Thr Val			
390	395	400	405
ATC AAC TTC AGA GGC AGC TCC GTG ATC CGA CTG CGG ATA TAT GTG TCG			1406

Ile Asn Phe Arg Gly Ser Ser Val Ile Arg Leu Arg Ile Tyr Val Ser

410

415

420

CAG TAT CCG TTC TGAGCCTCTG GCTAAGGCCT CTGACACTGC CTTTCACCAG 1458

Gln Tyr Pro Phe

425

CACCGAGGGA CGGGAGGAGA AAGGAAACCA GCAAGAATGA GAGCGAGACA GACATTGCAC 1518

CTTTCCTGCT GAATATCTCC TGGGGGCATC AGCCTAGCAT CTTGACCCAT ATCTGTACTA 1578

TTGCAGATGG TCACTCTGAA GGACACCCTG CCCTCAGTTC CTATGATGCA GTTATCCAAA 1638

AGTGTTTCATC TTAGCCCCCTG ATATGAGGTT GCCAGTGA CTCAAAGCC TTCCATTTAT 1698

TTCCATCGTT TTATAAAAAA GAAAATAGAT TAGATTTGCT GGGGTATGAG TCCTCGAAGG 1758

TTCAAAAGAC TGAGTGGCTT GCTCTCACCT CTTCTCTCTCC TTCCTCCATC TCTTGCTGCA 1818

TTGCTGCTTT GCAAAAGTCC TCATGGGCTC GTGGGAAATG CTGGGAATAG CTAGTTTGCT 1878

TCTTGCAATGT TCTGAGAAGG CTATGGGAAC ACACCACAGC AGGATCGAAG GTTTTTATAG 1938

AGTCTATTTT AAAATCACAT CTGGTATTTT CAGCATAAAA GAAATTTTAG TTGTCTTTAA 1998

AATTTGTATG AGTGTTTAAAC CTTTCTTAT TCATTTTGAG GCTTCTTAAA GTGGTAGAAT 2058

TCCTTCCAAA GGCCTCAGAT ACATGTTATG TTCAGTCTTT CCAACCTCAT CCTTTCCTGC 2118

ATCTTAGCCC AGTTTTTACG AAGACCCCTT AATCATGCTT TTTTAAGAGT TTTTACCCAA 2178

CTGCGTTGGA AGACAGAGGT ATCCAGACTG ATTAATAAAT TGAAGAAAAA AAAAA 2233

【配列表】

配列番号 : 4

配列の長さ : 423

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

配列

Gln Cys Thr Asn Gly Phe Asp Leu Asp Arg Gln Ser Gly Gln Cys Leu

1

5

10

15

Asp Ile Asp Glu Cys Arg Thr Ile Pro Glu Ala Cys Arg Gly Asp Met

20

25

30

Met Cys Val Asn Gln Asn Gly Gly Tyr Leu Cys Ile Pro Arg Thr Asn  
 35 40 45  
 Pro Val Tyr Arg Gly Pro Tyr Ser Asn Pro Tyr Ser Thr Ser Tyr Ser  
 50 55 60  
 Gly Pro Tyr Pro Ala Ala Ala Pro Pro Val Pro Ala Ser Asn Tyr Pro  
 65 70 75 80  
 Thr Ile Ser Arg Pro Leu Val Cys Arg Phe Gly Tyr Gln Met Asp Glu  
 85 90 95  
 Gly Asn Gln Cys Val Asp Val Asp Glu Cys Ala Thr Asp Ser His Gln  
 100 105 110  
 Cys Asn Pro Thr Gln Ile Cys Ile Asn Thr Glu Gly Gly Tyr Thr Cys  
 115 120 125  
 Ser Cys Thr Asp Gly Tyr Trp Leu Leu Glu Gly Gln Cys Leu Asp Ile  
 130 135 140  
 Asp Glu Cys Arg Tyr Gly Tyr Cys Gln Gln Leu Cys Ala Asn Val Pro  
 145 150 155 160  
 Gly Ser Tyr Ser Cys Thr Cys Asn Pro Gly Phe Thr Leu Asn Asp Asp  
 165 170 175  
 Gly Arg Ser Cys Gln Asp Val Asn Glu Cys Glu Thr Glu Asn Pro Cys  
 180 185 190  
 Val Gln Thr Cys Val Asn Thr Tyr Gly Ser Phe Ile Cys Arg Cys Asp  
 195 200 205  
 Pro Gly Tyr Glu Leu Glu Glu Asp Gly Ile His Cys Ser Asp Met Asp  
 210 215 220  
 Glu Cys Ser Phe Ser Glu Phe Leu Cys Gln His Glu Cys Val Asn Gln  
 225 230 235 240  
 Pro Gly Ser Tyr Phe Cys Ser Cys Pro Pro Gly Tyr Val Leu Leu Asp  
 245 250 255  
 Asp Asn Arg Ser Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Glu His Arg Asn His



260	265	270
Thr Cys Thr Ser Leu Gln Thr Cys Tyr Asn Leu Gln Gly Gly Phe Lys		
275	280	285
Cys Ile Asp Pro Ile Ser Cys Glu Glu Pro Tyr Leu Leu Ile Gly Glu		
290	295	300
Asn Arg Cys Met Cys Pro Ala Glu His Thr Ser Cys Arg Asp Gln Pro		
305	310	315
Phe Thr Ile Leu Tyr Arg Asp Met Asp Val Val Ser Gly Arg Ser Val		
325	330	335
Pro Ala Asp Ile Phe Gln Met Gln Ala Thr Thr Arg Tyr Pro Gly Ala		
340	345	350
Tyr Tyr Ile Phe Gln Ile Lys Ser Gly Asn Glu Gly Arg Glu Phe Tyr		
355	360	365
Met Arg Gln Thr Gly Pro Ile Ser Ala Thr Leu Val Met Thr Arg Pro		
370	375	380
Ile Lys Gly Pro Arg Asp Ile Gln Leu Asp Leu Glu Met Ile Thr Val		
385	390	395
Asn Thr Val Ile Asn Phe Arg Gly Ser Ser Val Ile Arg Leu Arg Ile		
405	410	415
Tyr Val Ser Gln Tyr Pro Phe		
420		

【配列表】

配列番号 : 5

配列の長さ : 1269

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

配列

CAGTGCACAA ACGGCTTTGA CCTGGACCGC CAGTCAGGAC AGTGTCTAGA TATTGATGAA 60  
 TGCCGGACCA TCCCTGAGGC TTGTCGTGGG GACATGATGT GTGTCAACCA GAATGGCGGG 120  
 TATTTGTGCA TCCCTCGAAC CAACCCAGTG TATCGAGGGC CTTACTCAAA TCCCTACTCT 180  
 ACATCCTACT CAGGCCCATA CCCAGCAGCG GCCCCACCAG TACCAGCTTC CAACTACCCC 240  
 ACGATTTCAA GGCCTCTTGT CTGCCGCTTT GGGTATCAGA TGGATGAAGG CAACCAGTGT 300  
 GTGGATGTGG ACGAGTGTGC AACAGACTCA CACCAGTGCA ACCCTACCCA GATCTGTATC 360  
 AACACTGAAG GAGGTTACAC CTGCTCCTGC ACCGATGGGT ACTGGCTTCT GGAAGGGCAG 420  
 TGCCTAGATA TTGATGAATG TCGCTATGGT TACTGCCAGC AGCTCTGTGC AAATGTTCCA 480  
 GGATCCTATT CCTGTACATG CAACCCTGGT TTCACCCTCA ACGACGATGG AAGGTCTTGC 540  
 CAAGATGTGA ACGAGTGCGA AACTGAGAAT CCCTGTGTTT AGACCTGTGT CAACACCTAT 600  
 GGCTCTTTCA TCTGCCGCTG TGACCCAGGA TATGAACTTG AGGAAGATGG CATTCACTGC 660  
 AGTGATATGG ACGAGTGCAG CTTCTCCGAG TTCCTCTGTC AACACGAGTG TGTGAACCAG 720  
 CCGGGCTCAT ACTTCTGCTC GTGCCCTCCA GGCTACGTCC TGTGGATGA TAACCGAAGC 780  
 TGCCAGGATA TCAATGAATG TGAGCACCGA AACCACACGT GTACCTCACT GCAGACTTGC 840  
 TACAATCTAC AAGGGGGCTT CAAATGTATT GATCCCATCA GCTGTGAGGA GCCTTATCTG 900  
 CTGATTGGTG AAAACCGCTG TATGTGTCCT GCTGAGCACA CCAGCTGCAG AGACCAGCCA 960  
 TTCACCATCC TGTATCGGGA CATGGATGTG GTGTCAGGAC GCTCCGTTCC TGCTGACATC 1020  
 TTCCAGATGC AAGCAACAAC CCGATACCCT GGTGCCTATT ACATTTTCCA GATCAAATCT 1080  
 GGCAACGAGG GTCGAGAGTT CTATATGCGG CAAACAGGGC CTATCAGTGC CACCCTGGTG 1140  
 ATGACACGCC CCATCAAAGG GCCTCGGGAC ATCCAGCTGG ACTTGGAGAT GATCACTGTC 1200  
 AACACTGTCA TCAACTTCAG AGGCAGCTCC GTGATCCGAC TGCGGATATA TGTGTCGCAG 1260  
 TATCCGTTC 1269

【配列表】

配列番号：6

配列の長さ：461

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

配列

Met Gly Pro Arg Ser Phe Glu Pro Met His Ser Gly Leu Cys Arg Gln  
 -36 -35 -30 -25  
 Arg Arg Met Ile Leu Thr Val Thr Ile Leu Ala Leu Trp Leu Pro His  
 -20 -15 -10 -5  
 Pro Gly Asn Ala Gln Gln Gln Cys Thr Asn Gly Phe Asp Leu Asp Arg  
 1 5 10  
 Gln Ser Gly Gln Cys Leu Asp Ile Asp Glu Cys Arg Thr Ile Pro Glu  
 15 20 25  
 Ala Cys Arg Gly Asp Met Met Cys Val Asn Gln Asn Gly Gly Tyr Leu  
 30 35 40  
 Cys Ile Pro Arg Thr Asn Pro Val Tyr Arg Gly Pro Tyr Ser Asn Pro  
 45 50 55 60  
 Tyr Ser Thr Ser Tyr Ser Gly Pro Tyr Pro Ala Ala Ala Pro Pro Val  
 65 70 75  
 Pro Ala Ser Asn Tyr Pro Thr Ile Ser Arg Pro Leu Val Cys Arg Phe  
 80 85 90  
 Gly Tyr Gln Met Asp Glu Gly Asn Gln Cys Val Asp Val Asp Glu Cys  
 95 100 105  
 Ala Thr Asp Ser His Gln Cys Asn Pro Thr Gln Ile Cys Ile Asn Thr  
 110 115 120  
 Glu Gly Gly Tyr Thr Cys Ser Cys Thr Asp Gly Tyr Trp Leu Leu Glu  
 125 130 135 140  
 Gly Gln Cys Leu Asp Ile Asp Glu Cys Arg Tyr Gly Tyr Cys Gln Gln  
 145 150 155  
 Leu Cys Ala Asn Val Pro Gly Ser Tyr Ser Cys Thr Cys Asn Pro Gly  
 160 165 170  
 Phe Thr Leu Asn Asp Asp Gly Arg Ser Cys Gln Asp Val Asn Glu Cys  
 175 180 185  
 Glu Thr Glu Asn Pro Cys Val Gln Thr Cys Val Asn Thr Tyr Gly Ser

190 195 200  
 Phe Ile Cys Arg Cys Asp Pro Gly Tyr Glu Leu Glu Glu Asp Gly Ile  
 205 210 215 220  
 His Cys Ser Asp Met Asp Glu Cys Ser Phe Ser Glu Phe Leu Cys Gln  
 225 230 235  
 His Glu Cys Val Asn Gln Pro Gly Ser Tyr Phe Cys Ser Cys Pro Pro  
 240 245 250  
 Gly Tyr Val Leu Leu Asp Asp Asn Arg Ser Cys Gln Asp Ile Asn Glu  
 255 260 265  
 Cys Glu His Arg Asn His Thr Cys Thr Ser Leu Gln Thr Cys Tyr Asn  
 270 275 280  
 Leu Gln Gly Gly Phe Lys Cys Ile Asp Pro Ile Ser Cys Glu Glu Pro  
 285 290 295 300  
 Tyr Leu Leu Ile Gly Glu Asn Arg Cys Met Cys Pro Ala Glu His Thr  
 305 310 315  
 Ser Cys Arg Asp Gln Pro Phe Thr Ile Leu Tyr Arg Asp Met Asp Val  
 320 325 330  
 Val Ser Gly Arg Ser Val Pro Ala Asp Ile Phe Gln Met Gln Ala Thr  
 335 340 345  
 Thr Arg Tyr Pro Gly Ala Tyr Tyr Ile Phe Gln Ile Lys Ser Gly Asn  
 350 355 360  
 Glu Gly Arg Glu Phe Tyr Met Arg Gln Thr Gly Pro Ile Ser Ala Thr  
 365 370 375 380  
 Leu Val Met Thr Arg Pro Ile Lys Gly Pro Arg Asp Ile Gln Leu Asp  
 385 390 395  
 Leu Glu Met Ile Thr Val Asn Thr Val Ile Asn Phe Arg Gly Ser Ser  
 400 405 410  
 Val Ile Arg Leu Arg Ile Tyr Val Ser Gln Tyr Pro Phe  
 415 420 425

## 【配列表】

配列番号：7

配列の長さ：1383

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

## 配列

ATGGGACCTA	GAAGTTTCGA	GCCAATGCAC	AGTGGACTCT	GCAGACAGAG	ACGCATGATA	60
CTCACTGTTA	CCATCTTGGC	ACTCTGGCTT	CCACATCCTG	GGAATGCACA	GCAGCAGTGC	120
ACAAACGGCT	TTGACCTGGA	CCGCCAGTCA	GGACAGTGTC	TAGATATTGA	TGAATGCCGG	180
ACCATCCCTG	AGGCTTGTCG	TGGGGACATG	ATGTGTGTCA	ACCAGAATGG	CGGGTATTTG	240
TGCATCCCTC	GAACCAACCC	AGTGTATCGA	GGGCCTTACT	CAAATCCCTA	CTCTACATCC	300
TACTCAGGCC	CATACCCAGC	AGCGGCCCCA	CCAGTACCAG	CTTCCAACTA	CCCCACGATT	360
TCAAGGCCTC	TTGTCTGCCG	CTTTGGGTAT	CAGATGGATG	AAGGCAACCA	GTGTGTGGAT	420
GTGGACGAGT	GTGCAACAGA	CTCACACCAG	TGCAACCCTA	CCCAGATCTG	TATCAACACT	480
GAAGGAGGTT	ACACCTGCTC	CTGCACCGAT	GGGTACTGGC	TTCTGGAAGG	GCAGTGCCTA	540
GATATTGATG	AATGTCGCTA	TGGTTACTGC	CAGCAGCTCT	GTGCAAATGT	TCCAGGATCC	600
TATTCCTGTA	CATGCAACCC	TGGTTTCACC	CTCAACGACG	ATGGAAGGTC	TTGCCAAGAT	660
GTGAACGAGT	GCGAAACTGA	GAATCCCTGT	G TTCAGACCT	GTGTCAACAC	CTATGGCTCT	720
TTCATCTGCC	GCTGTGACCC	AGGATATGAA	CTTGAGGAAG	ATGGCATTCA	CTGCAGTGAT	780
ATGGACGAGT	GCAGCTTCTC	CGAGTTCCTC	TGTCAACACG	AGTGTGTGAA	CCAGCCGGGC	840
TCATACTTCT	GCTCGTGCCC	TCCAGGCTAC	GTCCTGTTGG	ATGATAACCG	AAGCTGCCAG	900
GATATCAATG	AATGTGAGCA	CCGAAACCAC	ACGTGTACCT	CACTGCAGAC	TTGCTACAAT	960
CTACAAGGGG	GCTTCAAATG	TATTGATCCC	ATCAGCTGTG	AGGAGCCTTA	TCTGCTGATT	1020
GGTGAAAACC	GCTGTATGTG	TCCTGCTGAG	CACACCAGCT	GCAGAGACCA	GCCATTCCAC	1080
ATCCTGTATC	GGGACATGGA	TGTGGTGTCA	GGACGCTCCG	TTCCTGCTGA	CATCTTCCAG	1140
ATGCAAGCAA	CAACCCGATA	CCCTGGTGCC	TATTACATTT	TCCAGATCAA	ATCTGGCAAC	1200
GAGGGTCGAG	AGTTCTATAT	GCGGCAAACA	GGGCCTATCA	GTGCCACCCT	GGTGATGACA	1260

CGCCCCATCA AAGGGCCTCG GGACATCCAG CTGGACTTGG AGATGATCAC TGTCAACACT 1320  
 GTCATCAACT TCAGAGGCAG CTCCTGATC CGACTGCGGA TATATGTGTC GCAGTATCCG 1380  
 TTC 1383

【配列表】

配列番号：8

配列の長さ：2429

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：ムスムスクルス

オルガネラ：マウス 13 日胎児心臓

クローン名：mouse A 55b

配列の特徴

特徴を表す記号：CDS

存在位置：232..1614

特徴を決定した方法：S

特徴を表す記号：sig peptide

存在位置：232..339

特徴を決定した方法：S

特徴を表す記号：mat peptide

存在位置：340..1614

特徴を決定した方法：S

配列

CAGCATCTCG AGAGAGGCAG CAGACAACCT CTCTAGGTCA TTTCTCTTTC TTTTGGAAA 60  
 GGGCAGCAAC GTTGTGCGCA GTTATAAAA TATCACAATA CATGTTTTTT AAATTTGGGA 120  
 GACTGCTGAC TACGGCACCA GCAATTGCTT TGCTGCGACG GCTGTGAGAC AAGCAGAAGT 180  
 CTCGGAACAC TTCTGTCTGC GTTTGCTCTA TGTGTGTGAT TTACAGAGGG A ATG GGA 237



GAC TCA CAC CAG TGC AAC CCT ACC CAG ATC TGT ATC AAC ACT GAA GGA	717
Asp Ser His Gln Cys Asn Pro Thr Gln Ile Cys Ile Asn Thr Glu Gly	
115 120 125	
GGT TAC ACC TGC TCC TGC ACC GAT GGG TAC TGG CTT CTG GAA GGG CAG	765
Gly Tyr Thr Cys Ser Cys Thr Asp Gly Tyr Trp Leu Leu Glu Gly Gln	
130 135 140	
TGC CTA GAT ATT GAT GAA TGT CGC TAT GGT TAC TGC CAG CAG CTC TGT	813
Cys Leu Asp Ile Asp Glu Cys Arg Tyr Gly Tyr Cys Gln Gln Leu Cys	
145 150 155	
GCA AAT GTT CCA GGA TCC TAT TCC TGT ACA TGC AAC CCT GGT TTC ACC	861
Ala Asn Val Pro Gly Ser Tyr Ser Cys Thr Cys Asn Pro Gly Phe Thr	
160 165 170	
CTC AAC GAC GAT GGA AGG TCT TGC CAA GAT GTG AAC GAG TGC GAA ACT	909
Leu Asn Asp Asp Gly Arg Ser Cys Gln Asp Val Asn Glu Cys Glu Thr	
175 180 185 190	
GAG AAT CCC TGT GTT CAG ACC TGT GTC AAC ACC TAT GGC TCT TTC ATC	957
Glu Asn Pro Cys Val Gln Thr Cys Val Asn Thr Tyr Gly Ser Phe Ile	
195 200 205	
TGC CGC TGT GAC CCA GGA TAT GAA CTT GAG GAA GAT GGC ATT CAC TGC	1005
Cys Arg Cys Asp Pro Gly Tyr Glu Leu Glu Glu Asp Gly Ile His Cys	
210 215 220	
AGT GAT ATG GAC GAG TGC AGC TTC TCC GAG TTC CTC TGT CAA CAC GAG	1053
Ser Asp Met Asp Glu Cys Ser Phe Ser Glu Phe Leu Cys Gln His Glu	
225 230 235	
TGT GTG AAC CAG CCG GGC TCA TAC TTC TGC TCG TGC CCT CCA GGC TAC	1101
Cys Val Asn Gln Pro Gly Ser Tyr Phe Cys Ser Cys Pro Pro Gly Tyr	
240 245 250	
GTC CTG TTG GAT GAT AAC CGA AGC TGC CAG GAT ATC AAT GAA TGT GAG	1149
Val Leu Leu Asp Asp Asn Arg Ser Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Glu	



255	260	265	270	
CAC CGA AAC CAC ACG TGT ACC TCA CTG CAG ACT TGC TAC AAT CTA CAA				1197
His Arg Asn His Thr Cys Thr Ser Leu Gln Thr Cys Tyr Asn Leu Gln				
	275	280	285	
GGG GGC TTC AAA TGT ATT GAT CCC ATC AGC TGT GAG GAG CCT TAT CTG				1245
Gly Gly Phe Lys Cys Ile Asp Pro Ile Ser Cys Glu Glu Pro Tyr Leu				
	290	295	300	
CTG ATT GGT GAA AAC CGC TGT ATG TGT CCT GCT GAG CAC ACC AGC TGC				1293
Leu Ile Gly Glu Asn Arg Cys Met Cys Pro Ala Glu His Thr Ser Cys				
	305	310	315	
AGA GAC CAG CCA TTC ACC ATC CTG TAT CGG GAC ATG GAT GTG GTG TCA				1341
Arg Asp Gln Pro Phe Thr Ile Leu Tyr Arg Asp Met Asp Val Val Ser				
	320	325	330	
GGA CGC TCC GTT CCT GCT GAC ATC TTC CAG ATG CAA GCA ACA ACC CGA				1389
Gly Arg Ser Val Pro Ala Asp Ile Phe Gln Met Gln Ala Thr Thr Arg				
	335	340	345	350
TAC CCT GGT GCC TAT TAC ATT TTC CAG ATC AAA TCT GGC AAC GAG GGT				1437
Tyr Pro Gly Ala Tyr Tyr Ile Phe Gln Ile Lys Ser Gly Asn Glu Gly				
	355	360	365	
CGA GAG TTC TAT ATG CGG CAA ACA GGG CCT ATC AGT GCC ACC CTG GTG				1485
Arg Glu Phe Tyr Met Arg Gln Thr Gly Pro Ile Ser Ala Thr Leu Val				
	370	375	380	
ATG ACA CGC CCC ATC AAA GGG CCT CGG GAC ATC CAG CTG GAC TTG GAG				1533
Met Thr Arg Pro Ile Lys Gly Pro Arg Asp Ile Gln Leu Asp Leu Glu				
	385	390	395	
ATG ATC ACT GTC AAC ACT GTC ATC AAC TTC AGA GGC AGC TCC GTG ATC				1581
Met Ile Thr Val Asn Thr Val Ile Asn Phe Arg Gly Ser Ser Val Ile				
	400	405	410	
CGA CTG CGG ATA TAT GTG TCG CAG TAT CCG TTC TGAGCCTCTG GCTAAGGCCT				1634

Arg Leu Arg Ile Tyr Val Ser Gln Tyr Pro Phe

415

420

425

CTGACACTGC CTTTCACCAG CACCGAGGGA CGGGAGGAGA AAGGAAACCA GCAAGAATGA 1694  
 GAGCGAGACA GACATTGCAC CTTTCCTGCT GAATATCTCC TGGGGGCATC AGCCTAGCAT 1754  
 CTTGACCCAT ATCTGTACTA TTGCAGATGG TCACTCTGAA GGACACCCTG CCCTCAGTTC 1814  
 CTATGATGCA GTTATCCAAA AGTGTTTCATC TTAGCCCCTG ATATGAGGTT GCCAGTGACT 1874  
 CTTCAAAGCC TTCCATTTAT TTCCATCGTT TTATAAAAAA GAAAATAGAT TAGATTTGCT 1934  
 GGGGTATGAG TCCTCGAAGG TTCAAAAGAC TGAGTGGCTT GCTCTCACCT CTTCTCTCC 1994  
 TTCCTCCATC TCTTGCTGCA TTGCTGCTTT GCAAAAGTCC TCATGGGCTC GTGGGAAATG 2054  
 CTGGGAATAG CTAGTTTGCT TCTTGCATGT TCTGAGAAGG CTATGGGAAC ACACCACAGC 2114  
 AGGATCGAAG GTTTTTATAG AGTCTATTTT AAAATCACAT CTGGTATTTT CAGCATAAAA 2174  
 GAAATTTTAG TTGTCTTTAA AATTTGTATG AGTGTTTAAAC CTTTCTTAT TCATTTTGAG 2234  
 GCTTCTTAAA GTGGTAGAAT TCCTTCCAAA GGCCTCAGAT ACATGTTATG TTCAGTCTTT 2294  
 CCAACCTCAT CCTTTCCTGC ATCTTAGCCC AGTTTTTACG AAGACCCCTT AATCATGCTT 2354  
 TNTTAAGAGT TTTTACCCAA CTGCGTTGGA AGACAGAGGT ATCCAGACTG ATTAATAAAT 2414  
 TGAAGAAAAA AAAAA 2429

【配列表】

配列番号：9

配列の長さ：423

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

配列

Gln Cys Thr Asn Gly Phe Asp Leu Asp Arg Gln Ser Gly Gln Cys Leu

1

5

10

15

Asp Ile Asp Glu Cys Arg Thr Ile Pro Glu Ala Cys Arg Gly Asp Met

20

25

30

Met Cys Val Asn Gln Asn Gly Gly Tyr Leu Cys Ile Pro Arg Thr Asn

35

40

45

Pro Val Tyr Arg Gly Pro Tyr Ser Asn Pro Tyr Ser Thr Ser Tyr Ser			
50	55	60	
Gly Pro Tyr Pro Ala Ala Ala Pro Pro Val Pro Ala Ser Asn Tyr Pro			
65	70	75	80
Thr Ile Ser Arg Pro Leu Val Cys Arg Phe Gly Tyr Gln Met Asp Glu			
	85	90	95
Gly Asn Gln Cys Val Asp Val Asp Glu Cys Ala Thr Asp Ser His Gln			
	100	105	110
Cys Asn Pro Thr Gln Ile Cys Ile Asn Thr Glu Gly Gly Tyr Thr Cys			
	115	120	125
Ser Cys Thr Asp Gly Tyr Trp Leu Leu Glu Gly Gln Cys Leu Asp Ile			
	130	135	140
Asp Glu Cys Arg Tyr Gly Tyr Cys Gln Gln Leu Cys Ala Asn Val Pro			
	145	150	155
Gly Ser Tyr Ser Cys Thr Cys Asn Pro Gly Phe Thr Leu Asn Asp Asp			
	165	170	175
Gly Arg Ser Cys Gln Asp Val Asn Glu Cys Glu Thr Glu Asn Pro Cys			
	180	185	190
Val Gln Thr Cys Val Asn Thr Tyr Gly Ser Phe Ile Cys Arg Cys Asp			
	195	200	205
Pro Gly Tyr Glu Leu Glu Glu Asp Gly Ile His Cys Ser Asp Met Asp			
	210		
	215	220	
Glu Cys Ser Phe Ser Glu Phe Leu Cys Gln His Glu Cys Val Asn Gln			
	225	230	235
Pro Gly Ser Tyr Phe Cys Ser Cys Pro Pro Gly Tyr Val Leu Leu Asp			
	245	250	255
Asp Asn Arg Ser Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Glu His Arg Asn His			
	260	265	270

Thr Cys Thr Ser Leu Gln Thr Cys Tyr Asn Leu Gln Gly Gly Phe Lys  
 275 280 285  
 Cys Ile Asp Pro Ile Ser Cys Glu Glu Pro Tyr Leu Leu Ile Gly Glu  
 290 295 300  
 Asn Arg Cys Met Cys Pro Ala Glu His Thr Ser Cys Arg Asp Gln Pro  
 305 310 315 320  
 Phe Thr Ile Leu Tyr Arg Asp Met Asp Val Val Ser Gly Arg Ser Val  
 325 330 335  
 Pro Ala Asp Ile Phe Gln Met Gln Ala Thr Thr Arg Tyr Pro Gly Ala  
 340 345 350  
 Tyr Tyr Ile Phe Gln Ile Lys Ser Gly Asn Glu Gly Arg Glu Phe Tyr  
 355 360 365  
 Met Arg Gln Thr Gly Pro Ile Ser Ala Thr Leu Val Met Thr Arg Pro  
 370 375 380  
 Ile Lys Gly Pro Arg Asp Ile Gln Leu Asp Leu Glu Met Ile Thr Val  
 385 390 395 400  
 Asn Thr Val Ile Asn Phe Arg Gly Ser Ser Val Ile Arg Leu Arg Ile  
 405 410 415  
 Tyr Val Ser Gln Tyr Pro Phe  
 420

【配列表】

配列番号：10

配列の長さ：1269

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

配列

CAGTGCACAA ACGGCTTTGA CCTGGACCGC CAGTCAGGAC AGTGTCTAGA TATTGATGAA 60

TGCCGGACCA TCCCTGAGGC TTGTCGTGGG GACATGATGT GTGTCAACCA GAATGGCGGG	120
TATTTGTGCA TCCCTCGAAC CAACCCAGTG TATCGAGGGC CTTACTCAA TCCCTACTCT	180
ACATCCTACT CAGGCCATA CCCAGCAGCG GCCCCACCAG TACCAGCTTC CAACTACCCC	240
ACGATTTC AA GGCCTCTTGT CTGCCGCTTT GGGTATCAGA TGGATGAAGG CAACCCAGTG	300
GTGGATGTGG ACGAGTGTGC AACAGACTCA CACCAGTGCA ACCCTACCCA GATCTGTATC	360
AACACTGAAG GAGGTTACAC CTGCTCCTGC ACCGATGGGT ACTGGCTTCT GGAAGGGCAG	420
TGCCTAGATA TTGATGAATG TCGCTATGGT TACTGCCAGC AGCTCTGTGC AAATGTTCCA	480
GGATCCTATT CCTGTACATG CAACCCTGGT TTCACCCTCA ACGACGATGG AAGGTCTTGC	540
CAAGATGTGA ACGAGTGCGA AACTGAGAAT CCCTGTGTTC AGACCTGTGT CAACACCTAT	600
GGCTCTTTCA TCTGCCGCTG TGACCCAGGA TATGAACTTG AGGAAGATGG CATTCACTGC	660
AGTGATATGG ACGAGTGCAG CTTCTCCGAG TTCCTCTGTC AACACGAGTG TGTGAACCAG	720
CCGGGCTCAT ACTTCTGCTC GTGCCCTCCA GGCTACGTCC TGTGGATGA TAACCGAAGC	780
TGCCAGGATA TCAATGAATG TGAGCACCGA AACCACACGT GTACCTCACT GCAGACTTGC	840
TACAATCTAC AAGGGGGCTT CAAATGTATT GATCCCATCA GCTGTGAGGA GCCTTATCTG	900
CTGATTGGTG AAAACCGCTG TATGTGTCCT GCTGAGCACA CCAGCTGCAG AGACCAGCCA	960
TTCACCATCC TGTATCGGGA CATGGATGTG GTGTCAGGAC GCTCCGTTCC TGCTGACATC	1020
TTCCAGATGC AAGCAACAAC CCGATACCT GGTGCCTATT ACATTTTCCA GATCAAATCT	1080
GGCAACGAGG GTCGAGAGTT CTATATGCGG CAAACAGGGC CTATCAGTGC CACCCTGGTG	1140
ATGACACGCC CCATCAAAGG GCCTCGGGAC ATCCAGCTGG ACTTGGAGAT GATCACTGTC	1200
AACACTGTCA TCAACTTCAG AGGCAGCTCC GTGATCCGAC TGCGGATATA TGTGTCGCAG	1260
TATCCGTT	1269

【配列表】

配列番号：11

配列の長さ：448

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

配列

Met Pro Gly Ile Lys Arg Ile Leu Thr Val Thr Ile Leu Ala Leu Cys

特平 1 0 - 1 1 9 7 3 1

[illegible]

Asp Gly Val His Cys Ser Asp Met Asp Glu Cys Ser Phe Ser Glu Phe			
220	225	230	
Leu Cys Gln His Glu Cys Val Asn Gln Pro Gly Thr Tyr Phe Cys Ser			
235	240	245	
Cys Pro Pro Gly Tyr Ile Leu Leu Asp Asp Asn Arg Ser Cys Gln Asp			
250	255	260	265
Ile Asn Glu Cys Glu His Arg Asn His Thr Cys Asn Leu Gln Gln Thr			
270	275	280	
Cys Tyr Asn Leu Gln Gly Gly Phe Lys Cys Ile Asp Pro Ile Arg Cys			
285	290	295	
Glu Glu Pro Tyr Leu Arg Ile Ser Asp Asn Arg Cys Met Cys Pro Ala			
300	305	310	
Glu Asn Pro Gly Cys Arg Asp Gln Pro Phe Thr Ile Leu Tyr Arg Asp			
315	320	325	
Met Asp Val Val Ser Gly Arg Ser Val Pro Ala Asp Ile Phe Gln Met			
330	335	340	345
Gln Ala Thr Thr Arg Tyr Pro Gly Ala Tyr Tyr Ile Phe Gln Ile Lys			
350	355	360	
Ser Gly Asn Glu Gly Arg Glu Phe Tyr Met Arg Gln Thr Gly Pro Ile			
365	370	375	
Ser Ala Thr Leu Val Met Thr Arg Pro Ile Lys Gly Pro Arg Glu Ile			
380	385	390	
Gln Leu Asp Leu Glu Met Ile Thr Val Asn Thr Val Ile Asn Phe Arg			
395	400	405	
Gly Ser Ser Val Ile Arg Leu Arg Ile Tyr Val Ser Gln Tyr Pro Phe			
410	415	420	425

【配列表】

配列番号：12

配列の長さ：1344

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

配列

ATGCCAGGAA TAAAAAGGAT ACTCACTGTT ACCATTCTGG CTCTCTGTCT TCCAAGCCCT	60
GGGAATGCAC AGGCACAGTG CACGAATGGC TTTGACCTGG ATCGCCAGTC AGGACAGTGT	120
TTAGATATTG ATGAATGCCG AACCATCCCC GAGGCCTGCC GAGGAGACAT GATGTGTGTT	180
AACCAAAATG GCGGGTATTT ATGCATTCCC CGGACAAACC CTGTGTATCG AGGGCCCTAC	240
TCGAACCCCT ACTCGACCCC CTACTCAGGT CCGTACCCAG CAGCTGCCCC ACCACTCTCA	300
GCTCCAAACT ATCCACGAT CTCCAGGCCT CTTATATGCC GCTTTGGATA CCAGATGGAT	360
GAAAGCAACC AATGTGTGGA TGTGGACGAG TGTGCAACAG ATTCCCACCA GTGCAACCCC	420
ACCCAGATCT GCATCAATAC TGAAGGCGGG TACACCTGCT CCTGCACCGA CGGATATTGG	480
CTTCTGGAAG GCCAGTGCTT AGACATTGAT GAATGTCGCT ATGGTTACTG CCAGCAGCTC	540
TGTGCGAATG TTCCTGGATC CTATTCTTGT ACATGCAACC CTGGTTTTAC CCTCAATGAG	600
GATGGAAGGT CTTGCCAAGA TGTGAACGAG TGTGCCACCG AGAACCCTG CGTGCAAACC	660
TGCGTCAACA CCTACGGCTC TTTCATCTGC CGCTGTGACC CAGGATATGA ACTTGAGGAA	720
GATGGCGTTC ATTGCAGTGA TATGGACGAG TGCAGCTTCT CTGAGTTCCT CTGCCAACAT	780
GAGTGTGTGA ACCAGCCCGG CACATACTTC TGCTCCTGCC CTCCAGGCTA CATCCTGCTG	840
GATGACAACC GAAGCTGCCA AGACATCAAC GAATGTGAGC ACAGGAACCA CACGTGCAAC	900
CTGCAGCAGA CGTGCTACAA TTTACAAGGG GGCTTCAAAT GCATCGACCC CATCCGCTGT	960
GAGGAGCCTT ATCTGAGGAT CAGTGATAAC CGCTGTATGT GTCCTGCTGA GAACCCTGGC	1020
TGCAGAGACC AGCCCTTTAC CATCTTGTAC CGGGACATGG ACGTGGTGTC AGGACGCTCC	1080
GTTCCCGCTG ACATCTTCCA AATGCAAGCC ACGACCCGCT ACCCTGGGGC CTATTACATT	1140
TTCCAGATCA AATCTGGGAA TGAGGGCAGA GAATTTTACA TGCGGCAAAC GGGCCCCATC	1200
AGTGCCACCC TGGTGATGAC ACGCCCCATC AAAGGGCCCC GGGAAATCCA GCTGGACTTG	1260
GAAATGATCA CTGTCAACAC TGTCATCAAC TTCAGAGGCA GCTCCGTGAT CCGACTGCGG	1320
ATATATGTGT CGCAGTACCC ATTC	1344

【配列表】



配列番号 : 13

配列の長さ : 2328

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

起源

生物名 : ホモサピエンス

オルガネラ : ヒト脳組織

クローン名 : human A 5 5

配列の特徴

特徴を表す記号 : CDS

存在位置 : 169..1512

特徴を決定した方法 : S

特徴を表す記号 : sig peptide

存在位置 : 169..237

特徴を決定した方法 : S

特徴を表す記号 : mat peptide

存在位置 : 238..1512

特徴を決定した方法 : S

配列

GACCCGGCGC TCTCCCCGTG TCCTCTCCAC GACTCGCTCG GCCCCTCTGG AATAAAACAC 60  
CCGCGAGCCC CGAGGGCCCA GAGGAGGCCG ACGTGCCCGA GCTCCTCCGG GGGTCCCGCC 120  
CGCGAGCTTT CTTCTCGCCT TCGCATCTCC TCCTCGCGCG TCTTGGAC ATG CCA GGA 177

Met Pro Gly

-23

ATA AAA AGG ATA CTC ACT GTT ACC ATT CTG GCT CTC TGT CTT CCA AGC 225  
Ile Lys Arg Ile Leu Thr Val Thr Ile Leu Ala Leu Cys Leu Pro Ser

-20

-15

-10

-5

CCT GGG AAT GCA CAG GCA CAG TGC ACG AAT GGC TTT GAC CTG GAT CGC 273  
 Pro Gly Asn Ala Gln Ala Gln Cys Thr Asn Gly Phe Asp Leu Asp Arg  
 1 5 10  
 CAG TCA GGA CAG TGT TTA GAT ATT GAT GAA TGC CGA ACC ATC CCC GAG 321  
 Gln Ser Gly Gln Cys Leu Asp Ile Asp Glu Cys Arg Thr Ile Pro Glu  
 15 20 25  
 GCC TGC CGA GGA GAC ATG ATG TGT GTT AAC CAA AAT GGC GGG TAT TTA 369  
 Ala Cys Arg Gly Asp Met Met Cys Val Asn Gln Asn Gly Gly Tyr Leu  
 30 35 40  
 TGC ATT CCC CGG ACA AAC CCT GTG TAT CGA GGG CCC TAC TCG AAC CCC 417  
 Cys Ile Pro Arg Thr Asn Pro Val Tyr Arg Gly Pro Tyr Ser Asn Pro  
 45 50 55 60  
 TAC TCG ACC CCC TAC TCA GGT CCG TAC CCA GCA GCT GCC CCA CCA CTC 465  
 Tyr Ser Thr Pro Tyr Ser Gly Pro Tyr Pro Ala Ala Ala Pro Pro Leu  
 65 70 75  
 TCA GCT CCA AAC TAT CCC ACG ATC TCC AGG CCT CTT ATA TGC CGC TTT 513  
 Ser Ala Pro Asn Tyr Pro Thr Ile Ser Arg Pro Leu Ile Cys Arg Phe  
 80 85 90  
 GGA TAC CAG ATG GAT GAA AGC AAC CAA TGT GTG GAT GTG GAC GAG TGT 561  
 Gly Tyr Gln Met Asp Glu Ser Asn Gln Cys Val Asp Val Asp Glu Cys  
 95 100 105  
 GCA ACA GAT TCC CAC CAG TGC AAC CCC ACC CAG ATC TGC ATC AAT ACT 609  
 Ala Thr Asp Ser His Gln Cys Asn Pro Thr Gln Ile Cys Ile Asn Thr  
 110 115 120  
 GAA GGC GGG TAC ACC TGC TCC TGC ACC GAC GGA TAT TGG CTT CTG GAA 657  
 Glu Gly Gly Tyr Thr Cys Ser Cys Thr Asp Gly Tyr Trp Leu Leu Glu  
 125 130 135 140  
 GGC CAG TGC TTA GAC ATT GAT GAA TGT CGC TAT GGT TAC TGC CAG CAG 705  
 Gly Gln Cys Leu Asp Ile Asp Glu Cys Arg Tyr Gly Tyr Cys Gln Gln

145	150	155	
CTC TGT GCG AAT GTT CCT GGA TCC TAT TCT TGT ACA TGC AAC CCT GGT			753
Leu Cys Ala Asn Val Pro Gly Ser Tyr Ser Cys Thr Cys Asn Pro Gly			
160	165	170	
TTT ACC CTC AAT GAG GAT GGA AGG TCT TGC CAA GAT GTG AAC GAG TGT			801
Phe Thr Leu Asn Glu Asp Gly Arg Ser Cys Gln Asp Val Asn Glu Cys			
175	180	185	
GCC ACC GAG AAC CCC TGC GTG CAA ACC TGC GTC AAC ACC TAC GGC TCT			849
Ala Thr Glu Asn Pro Cys Val Gln Thr Cys Val Asn Thr Tyr Gly Ser			
190	195	200	
TTC ATC TGC CGC TGT GAC CCA GGA TAT GAA CTT GAG GAA GAT GGC GTT			897
Phe Ile Cys Arg Cys Asp Pro Gly Tyr Glu Leu Glu Glu Asp Gly Val			
205	210	215	220
CAT TGC AGT GAT ATG GAC GAG TGC AGC TTC TCT GAG TTC CTC TGC CAA			945
His Cys Ser Asp Met Asp Glu Cys Ser Phe Ser Glu Phe Leu Cys Gln			
225	230	235	
CAT GAG TGT GTG AAC CAG CCC GGC ACA TAC TTC TGC TCC TGC CCT CCA			993
His Glu Cys Val Asn Gln Pro Gly Thr Tyr Phe Cys Ser Cys Pro Pro			
240	245	250	
GGC TAC ATC CTG CTG GAT GAC AAC CGA AGC TGC CAA GAC ATC AAC GAA			1041
Gly Tyr Ile Leu Leu Asp Asp Asn Arg Ser Cys Gln Asp Ile Asn Glu			
255	260	265	
TGT GAG CAC AGG AAC CAC ACG TGC AAC CTG CAG CAG ACG TGC TAC AAT			1089
Cys Glu His Arg Asn His Thr Cys Asn Leu Gln Gln Thr Cys Tyr Asn			
270	275	280	
TTA CAA GGG GGC TTC AAA TGC ATC GAC CCC ATC CGC TGT GAG GAG CCT			1137
Leu Gln Gly Gly Phe Lys Cys Ile Asp Pro Ile Arg Cys Glu Glu Pro			
285	290	295	300
TAT CTG AGG ATC AGT GAT AAC CGC TGT ATG TGT CCT GCT GAG AAC CCT			1185

Tyr Leu Arg Ile Ser Asp Asn Arg Cys Met Cys Pro Ala Glu Asn Pro  
 305 310 315  
 GGC TGC AGA GAC CAG CCC TTT ACC ATC TTG TAC CGG GAC ATG GAC GTG 1233  
 Gly Cys Arg Asp Gln Pro Phe Thr Ile Leu Tyr Arg Asp Met Asp Val  
 320 325 330  
 GTG TCA GGA CGC TCC GTT CCC GCT GAC ATC TTC CAA ATG CAA GCC ACG 1281  
 Val Ser Gly Arg Ser Val Pro Ala Asp Ile Phe Gln Met Gln Ala Thr  
 335 340 345  
 ACC CGC TAC CCT GGG GCC TAT TAC ATT TTC CAG ATC AAA TCT GGG AAT 1329  
 Thr Arg Tyr Pro Gly Ala Tyr Tyr Ile Phe Gln Ile Lys Ser Gly Asn  
 350 355 360  
 GAG GGC AGA GAA TTT TAC ATG CGG CAA ACG GGC CCC ATC AGT GCC ACC 1377  
 Glu Gly Arg Glu Phe Tyr Met Arg Gln Thr Gly Pro Ile Ser Ala Thr  
 365 370 375 380  
 CTG GTG ATG ACA CGC CCC ATC AAA GGG CCC CGG GAA ATC CAG CTG GAC 1425  
 Leu Val Met Thr Arg Pro Ile Lys Gly Pro Arg Glu Ile Gln Leu Asp  
 385 390 395  
 TTG GAA ATG ATC ACT GTC AAC ACT GTC ATC AAC TTC AGA GGC AGC TCC 1473  
 Leu Glu Met Ile Thr Val Asn Thr Val Ile Asn Phe Arg Gly Ser Ser  
 400 405 410  
 GTG ATC CGA CTG CGG ATA TAT GTG TCG CAG TAC CCA TTC TGAGCCTCGG 1522  
 Val Ile Arg Leu Arg Ile Tyr Val Ser Gln Tyr Pro Phe  
 415 420 425  
 GCTGGAGCCT CCGACGCTGC CTCTCATTGG CACCAAGGGA CAGGAGAAGA GAGGAAATAA 1582  
 CAGAGAGAAT GAGAGCGACA CAGACGTTAG GCATTTCCTG CTGAACGTTT CCCCAGAGAG 1642  
 TCAGCCCCGA CTTCCTGACT CTCACCTGTA CTATTGCAGA CCTGTCACCC TGCAGGACTT 1702  
 GCCACCCCCA GTTCCTATGA TACAGTTATC AAAAAGTATT ATCATTGCTC CCCTGATAGA 1762  
 AGATTGTTGG TGAATTTTCA AGGCCTTCAG TTTATTTCCA CTATTTTCAA AGAAAATAGA 1822  
 TTAGGTTTGC GGGGGTCTGA GTCTATGTTT AAAGACTGTG AACAGCTTGC TGTCACTTCT 1882

TCACCTCTTC CACTCCTTCT CTCACTGTGT TACTGCTTTG CAAAGACCCG GGAGCTGGCG 1942  
 GGAACCCCTG GGAGTAGCTA GTTTGCTTTT TGC GTACACA GAGAAGGCTA TGTAACAAA 2002  
 CCACAGCAGG ATCGAAGGGT TTTTAGAGAA TGTGTTTCAA AACCATGCCT GGTATTTTCA 2062  
 ACCATAAAAG AAGTTTCAGT TGTCTTAAA TTTGTATAAC GGTTTAATTC TGTCTTGTC 2122  
 ATTTTGAGTA TTTTAAAAA ATATGTCGTA GAATTCCTTC GAAAGGCCTT CAGACACATG 2182  
 CTATGTTCTG TCTTCCAAA CCCAGTCTCC TCTCCATTTT AGCCCAGTGT TTTCTTTGAG 2242  
 GACCCCTTAA TCTTGCTTTC TTTAGAATTT TTACCCAATT GGATTGGAAT GCAGAGGTCT 2302  
 CCAAATGAT TAAATATTTG AAGAGA 2328

【配列表】

配列番号：14

配列の長さ：423

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

配列

Gln Cys Thr Asn Gly Phe Asp Leu Asp Arg Gln Ser Gly Gln Cys Leu

1 5 10 15

Asp Ile Asp Glu Cys Arg Thr Ile Pro Glu Ala Cys Arg Gly Asp Met

20 25 30

Met Cys Val Asn Gln Asn Gly Gly Tyr Leu Cys Ile Pro Arg Thr Asn

35 40 45

Pro Val Tyr Arg Gly Pro Tyr Ser Asn Pro Tyr Ser Thr Pro Tyr Ser

50 55 60

Gly Pro Tyr Pro Ala Ala Ala Pro Pro Leu Ser Ala Pro Asn Tyr Pro

65 70 75 80

Thr Ile Ser Arg Pro Leu Ile Cys Arg Phe Gly Tyr Gln Met Asp Glu

85 90 95

Ser Asn Gln Cys Val Asp Val Asp Glu Cys Ala Thr Asp Ser His Gln

100 105 110

Cys Asn Pro Thr Gln Ile Cys Ile Asn Thr Glu Gly Gly Tyr Thr Cys  
 115 120 125  
 Ser Cys Thr Asp Gly Tyr Trp Leu Leu Glu Gly Gln Cys Leu Asp Ile  
 130 135 140  
 Asp Glu Cys Arg Tyr Gly Tyr Cys Gln Gln Leu Cys Ala Asn Val Pro  
 145 150 155 160  
 Gly Ser Tyr Ser Cys Thr Cys Asn Pro Gly Phe Thr Leu Asn Glu Asp  
 165 170 175  
 Gly Arg Ser Cys Gln Asp Val Asn Glu Cys Ala Thr Glu Asn Pro Cys  
 180 185 190  
 Val Gln Thr Cys Val Asn Thr Tyr Gly Ser Phe Ile Cys Arg Cys Asp  
 195 200 205  
 Pro Gly Tyr Glu Leu Glu Glu Asp Gly Val His Cys Ser Asp Met Asp  
 210 215 220  
 Glu Cys Ser Phe Ser Glu Phe Leu Cys Gln His Glu Cys Val Asn Gln  
 225 230 235 240  
 Pro Gly Thr Tyr Phe Cys Ser Cys Pro Pro Gly Tyr Ile Leu Leu Asp  
 245 250 255  
 Asp Asn Arg Ser Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Glu His Arg Asn His  
 260 265 270  
 Thr Cys Asn Leu Gln Gln Thr Cys Tyr Asn Leu Gln Gly Gly Phe Lys  
 275 280 285  
 Cys Ile Asp Pro Ile Arg Cys Glu Glu Pro Tyr Leu Arg Ile Ser Asp  
 290 295 300  
 Asn Arg Cys Met Cys Pro Ala Glu Asn Pro Gly Cys Arg Asp Gln Pro  
 305 310 315 320  
 Phe Thr Ile Leu Tyr Arg Asp Met Asp Val Val Ser Gly Arg Ser Val  
 325 330 335  
 Pro Ala Asp Ile Phe Gln Met Gln Ala Thr Thr Arg Tyr Pro Gly Ala

340 345 350  
 Tyr Tyr Ile Phe Gln Ile Lys Ser Gly Asn Glu Gly Arg Glu Phe Tyr  
 355 360 365  
 Met Arg Gln Thr Gly Pro Ile Ser Ala Thr Leu Val Met Thr Arg Pro  
 370 375 380  
 Ile Lys Gly Pro Arg Glu Ile Gln Leu Asp Leu Glu Met Ile Thr Val  
 385 390 395 400  
 Asn Thr Val Ile Asn Phe Arg Gly Ser Ser Val Ile Arg Leu Arg Ile  
 405 410 415  
 Tyr Val Ser Gln Tyr Pro Phe  
 420

【配列表】

配列番号：15

配列の長さ：1269

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

配列

CAGTGCACGA ATGGCTTTGA CCTGGATCGC CAGTCAGGAC AGTGTTTAGA TATTGATGAA 60  
 TGCCGAACCA TCCCCGAGGC CTGCCGAGGA GACATGATGT GTGTTAACCA AAATGGCGGG 120  
 TATTTATGCA TTCCCCGGAC AAACCCTGTG TATCGAGGGC CCTACTCGAA CCCCTACTCG 180  
 ACCCCCTACT CAGGTCCGTA CCCAGCAGCT GCCCCACCAC TCTCAGCTCC AAATATCCC 240  
 ACGATCTCCA GGCCTCTTAT ATGCCGCTTT GGATACCAGA TGGATGAAAG CAACCAATGT 300  
 GTGGATGTGG ACGAGTGTGC AACAGATTCC CACCAGTGCA ACCCCACCCA GATCTGCATC 360  
 AATACTGAAG GCGGGTACAC CTGCTCCTGC ACCGACGGAT ATTGGCTTCT GGAAGGCCAG 420  
 TGCTTAGACA TTGATGAATG TCGCTATGGT TACTGCCAGC AGCTCTGTGC GAATGTTCC 480  
 GGATCCTATT CTTGTACATG CAACCCTGGT TTTACCCTCA ATGAGGATGG AAGGTCTTGC 540  
 CAAGATGTGA ACGAGTGTGC CACCGAGAAC CCCTGCGTGC AAACCTGCGT CAACACCTAC 600

GGCTCTTTCA TCTGCCGCTG TGACCCAGGA TATGAACTTG AGGAAGATGG CGTTCATTGC	660
AGTGATATGG ACGAGTGCAG CTTCTCTGAG TTCCTCTGCC AACATGAGTG TGTGAACCAG	720
CCCGGCACAT ACTTCTGCTC CTGCCCTCCA GGCTACATCC TGCTGGATGA CAACCGAAGC	780
TGCCAAGACA TCAACGAATG TGAGCACAGG AACCACACGT GCAACCTGCA GCAGACGTGC	840
TACAATTTAC AAGGGGGCTT CAAATGCATC GACCCCATCC GCTGTGAGGA GCCTTATCTG	900
AGGATCAGTG ATAACCGCTG TATGTGTCCT GCTGAGAACC CTGGCTGCAG AGACCAGCCC	960
TTTACCATCT TGTACCGGGA CATGGACGTG GTGTCAGGAC GCTCCGTTCC CGGTGACATC	1020
TTCCAAATGC AAGCCACGAC CCGCTACCCT GGGGCCTATT ACATTTTCCA GATCAAATCT	1080
GGGAATGAGG GCAGAGAATT TTACATGCGG CAAACGGGCC CCATCAGTGC CACCCTGGTG	1140
ATGACACGCC CCATCAAAGG GCCCCGGGAA ATCCAGCTGG ACTTGAAAT GATCACTGTC	1200
AACACTGTCA TCAACTTCAG AGGCAGCTCC GTGATCCGAC TGCGGATATA TGTGTCCGAG	1260
TACCCATTC	1269



【書類名】 図面

【図 1】

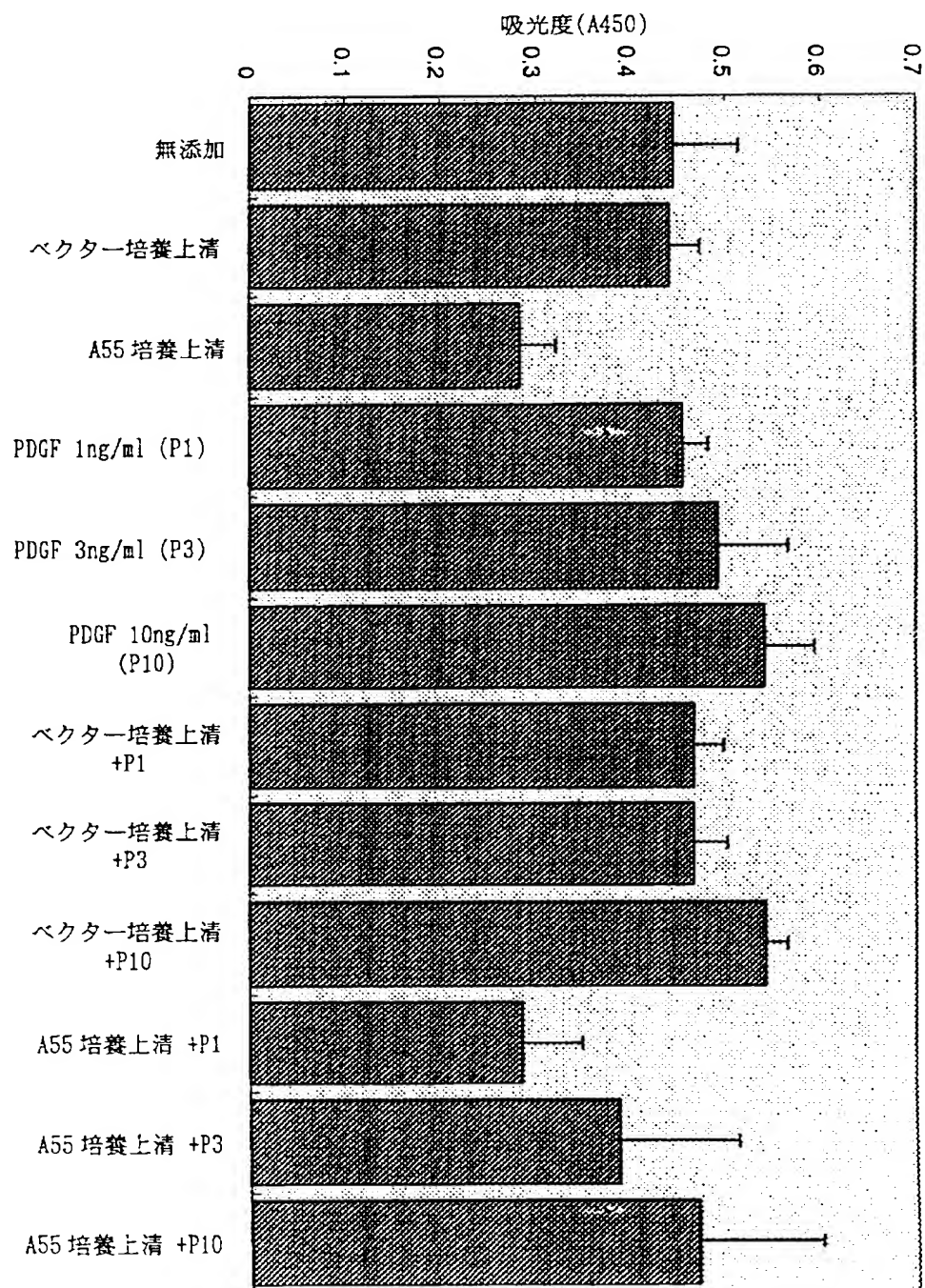
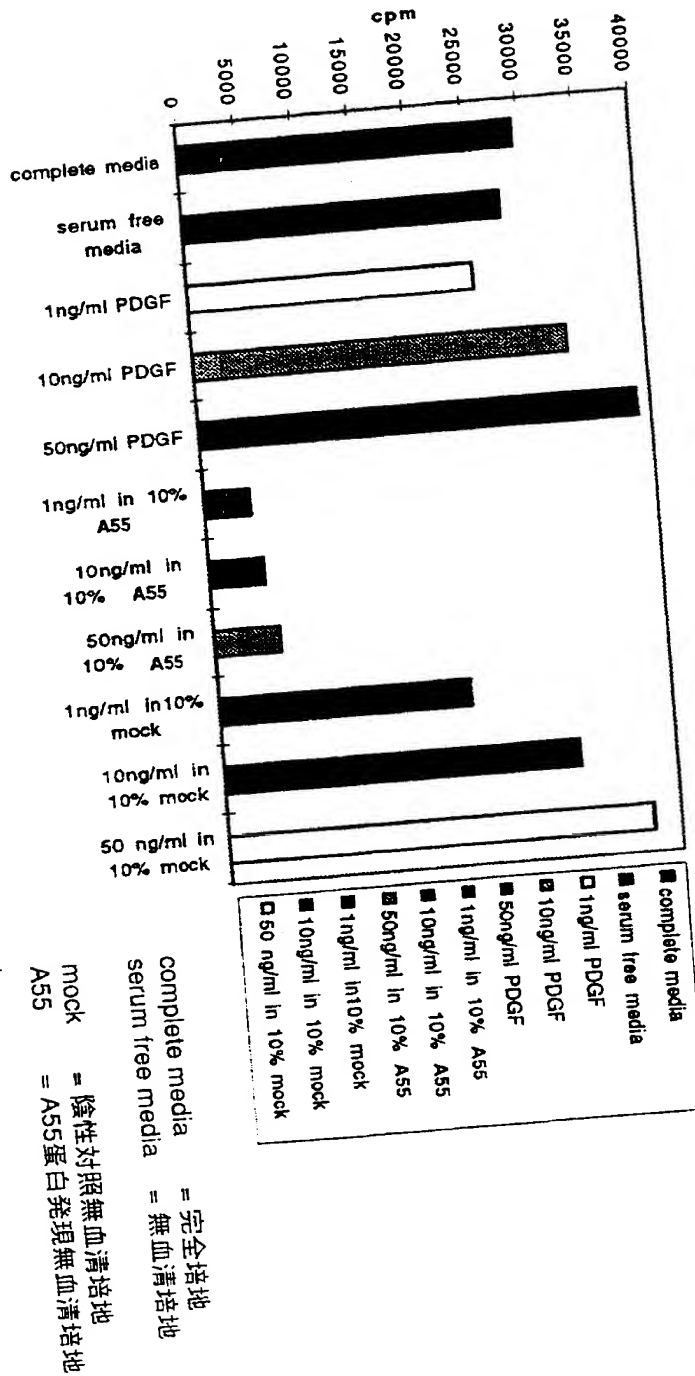


図 1 PDGF 刺激したラット大動脈血管平滑筋細胞の増殖に対するマウス A55 蛋白の阻害作用

【図2】

図2 A55発現培養上清によるPDGF刺激大動脈血管平滑筋細胞の増殖阻害



【書類名】 要約書

【要約】

【構成】

マウスおよびヒトの新規なポリペプチド、その製造法、そのポリペプチドをコードする cDNA、その cDNA 配列に選択的にハイブリダイズするフラグメント、その cDNA を組み込まれた複製又は発現プラスミド、そのプラスミドで形質転換された宿主細胞、そのポリペプチドの抗体、そのポリペプチドまたは抗体を含有する薬学的組成物およびこのペプチドを用いたスクリーニング方法に関する。

【効果】

本発明のポリペプチドは、血管平滑筋細胞の増殖を抑制する効果を有するため、異常な平滑筋の増殖に係る疾患、例えば動脈硬化や筋腫等の治療に応用可能であると考えられる。また、造血細胞制御活性、組織生成／修復活性、アクチビン／インヒビン活性、走化性／化学運動性活性、凝血および血栓活性、受容体／リガンド活性等を有していると考えられるため、種々の疾患予防および／または治療に有用であると考えられる。

【選択図】 なし

特平 10-119731

【書類名】  
【訂正書類】

職権訂正データ  
特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】

【住所又は居所】

【氏名又は名称】

申請人

000185983

大阪府大阪市中央区道修町2丁目1番5号

小野薬品工業株式会社

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000185983]

1. 変更年月日 1990年 9月 2日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 大阪府大阪市中央区道修町2丁目1番5号  
氏 名 小野薬品工業株式会社

